
HONI SOIT QUI MAL Y PENSE
DIEU ET MON DROIT

Zentralblatt

für

Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten

Begründet von Oskar Uhlworm

Zweite Abteilung:

Allgemeine, landwirtschaftliche, technische, Nahrungsmittel-Bakteriologie und Mykologie (einschließlich der Gärungsphysiologie und Enzymologie), Protozoologie, Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz, sowie Tierkrankheiten (ausschließlich der in das Gebiet der Medizin gehörenden)

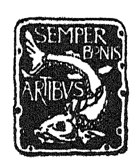
herausgegeben von

Oberregierungsrat Dr. C. Stapp

Berlin-Dahlem, Königin-Luise-Str. 17/19

99. Band

Mit 103 Abbildungen im Text und 5 Tafeln



Jena
Verlag von Gustav
1938/39

Zentralblatt für Bakt. etc. II. Abt. Bd. 99. No. 1|4.
Ausgegeben am 20. September 1938.

Beitrag zur Physiologie des Wurzelknöllchenbakteriums[1].

[Aus dem Botanischen Institut der Albertus-Universität Königsberg.]

Von **Joachim Pietz.**

Mit 7 Abbildungen im Text.

A. Einleitung.

Beijerinck, der Entdecker des Bacterium radicicola, hatte sich bereits bemüht, den Mechanismus der Stickstoffbindung aufzuhellen. Es lag nahe, das von ihm isolierte Bakterium für die Stickstoffbindung selbst verantwortlich zu machen. Aber er konnte keine Stickstoffzunahme in Reinkulturen feststellen. 1891 berichtet er über eine Stickstoffzunahme von 0,9 bis 1,8 mg in 100 ccm Kulturlösung. 1918 jedoch bezweifelt er selbst wieder die Fähigkeit der Wurzelknöllchenbakterien, in Reinkultur den Stickstoff der Luft assimilieren zu können, und viele andere Behauptungen einer Stickstoffbindung durch Bakterienreinkulturen sind immer wieder durch die Nachuntersuchung in Zweifel gezogen worden. Seitdem ist viel Arbeit ohne entscheidenden Erfolg auf dieses Gebiet der Pflanzenphysiologie verwendet worden. So haben wir heute noch keinerlei beweiskräftige Untersuchungen über die Art und den Ort der Stickstoffbindung. Wir wissen heute immer noch nicht, ob die Bakterien den Stickstoff binden, ob die Leguminosen unter dem Einfluß der Bakterien es tun oder ob ein enges Wechselspiel beider Organismen die Reaktion ermöglicht. Die Unklarheit auf diesem Gebiet bringt von Jahr zu Jahr Arbeiten hervor, in denen erneut Zweifel an den Grunderkenntnissen von Hellriegel und Wilfahrt geäußert werden. Nach Hellriegel und Wilfahrt assimilieren die Leguminosen nur dann den Stickstoff der Luft, wenn sich an ihren Wurzeln die charakteristischen Knöllchen entwickelt haben, d. h. also, daß die Symbiose allein die entscheidende Voraussetzung für die Stickstoffbindung ist. Von Zeit zu Zeit werden neue „Beweise" veröffentlicht, wonach die Leguminosen auch ohne ihre Symbionten imstande sind, den Stickstoff zu binden (z. B. N. Vita), doch stellte sich immer wieder heraus, daß methodische Mängel Irrtümer veranlaßt haben. Bei diesem Arbeitsaufwand ist es verwunderlich, daß über die physiologischen Grundlagen der Stickstoffbindung und über die Lebensbedingungen des Bakteriums im Knöllchen recht wenig veröffentlicht worden ist.

Wenn wir der Stickstoffbindung die einfachste Reaktion

$$N_2 + 3\ H_2 = 2\ NH_3 + 22{,}0\ \text{Kal.}$$

zugrunde legen, wie das zuerst Linhardt vermutet hat, so handelt es

[1]) Erschienen als Dissertation der Naturwissenschaftlichen Fakultät der Albertus-Universität Königsberg.

sich um einen exothermen Prozeß, einer Ausnahme von dem normalen thermischen Verlauf von Hydrierungen. Damit ist aber keineswegs gesagt, daß eine solche Reaktion auch im Organismus ohne Energiezufuhr vor sich gehen kann. Diese summarische Gleichung gibt uns keinen Einblick in die möglichen Teilreaktionen, unter denen auch endotherme Prozesse sein können; sie sagt uns nicht, ob nicht Stickstoff einer energetischen Anregung bedarf, um reaktionsfähig zu werden und ob die Wasserstoffanlieferung nicht Energieaufwand erfordert. Ist aber irgendein Teilprozeß dieses Gesamtvorganges endotherm, so wäre es möglich, wie es nach der jetzigen Anschauung meist bei biologischen Umsetzungen der Fall ist, daß nicht beliebige Energielieferanten, sondern spezifische anzusetzen wären, wie ja fast allgemein Energieübertragungen durch Koppelung von endothermen mit spezifischen exothermen Reaktionen stattfinden. Auch wissen wir nicht, woher der Wasserstoff bei dieser Reaktion kommt.

In diesem Zusammenhang ist es interessant, daß bereits Frank in der Stärkeanreicherung in den Wurzelknöllchen eine bedeutungsvolle Beziehung zur Stickstoffbindung vermutete. Rippel und Poschenrieder haben diese Untersuchungen wieder aufgenommen und gezeigt, „daß alle Verhältnisse, die die Kohlensäureassimilation begünstigen, sich in dem Stärkegehalt der Knöllchen widerspiegeln und umgekehrt. Selbstverständlich ist es nicht unbedingt zwingend, daraus auch auf den Verbrauch durch die Bakterien zu schließen. Andererseits wäre ohne diese Annahme die Stärkespeicherung in den Knöllchen nicht verständlich". Die Reduktion des Stickstoffs zu Ammoniak, so stellen sie weiter fest, ist vom ökonomischen Standpunkt betrachtet sicher vorteilhafter als eine Oxydation über salpetrige Säure zu Salpetersäure, die dann zur Eiweißsynthese wieder zu Ammoniak reduziert werden müßte. Der zur Reduktion benötigte Wasserstoff ist, analog der alkoholischen Gärung, im Rahmen der Umsetzung organischer Stoffe entstanden und nicht etwa freier Wasserstoff, wie er bei der Buttersäuregärung auftritt. Virtanen und Mitarbeiter behaupten zwar, daß die Knöllchenbakterien Buttersäuregärer seien, was wir aber nicht bestätigen können.

Der Befund von Virtanen, daß Leguminosenknöllchen Aminosäuren produzieren und an ihre Umgebung abgeben, ist wohl interessant, besagt aber nicht, daß in dem Stickstoffbindungsprozeß direkt, vielleicht unter Umgehung von Ammoniak, bestimmte Aminosäuren gebildet werden. Es könnte sich auch um sekundäre und unspezifische Produkte eines intensiven Eiweißumsatzes handeln.

Da wir keine Anhaltspunkte dafür haben, daß Aminosäuren anders als aus Ammoniak entstehen, sprechen die Virtanenschen Befunde auf jeden Fall dafür, daß zunächst Ammoniak gebildet wird. Im Prinzip muß der molekulare Stickstoff also angeregt und hydriert werden.

Der Wasserstoffanlagerung muß an anderem Orte eine Wasserstoffabspaltung vorausgehen. So liegt es nahe, bestimmte Oxydationspotentiale als Voraussetzung der Stickstoffbindung zu vermuten.

Daraus ergibt sich nun die Aufgabe meiner Arbeit. Es soll versucht werden, die Lebensbedingungen zu studieren, die die künstliche Bakterienkultur vom Knöllchen unterscheiden, das Substrat optimalen Bakterienwachstums zu suchen und die Redoxpotentiale zu ermitteln, die vom Bakterium erzeugt werden oder die im Experiment sein Wachstum beeinflussen.

B. Methodik.

Die Bestimmung der Redoxpotentiale nahmen wir nach den von Michaelis gegebenen Vorschriften elektrometrisch vor. Wir benutzten vergoldete Platinelektroden. Im allgemeinen werden die ermittelten Redoxpotentiale in r_H-Werten ausgedrückt. Dabei bedeutet r_H den negativen Logarithmus des Wasserstoffgasdrucks, der in einer Lösung von gleichem p_H wie das Redoxsystem dasselbe Potential wie das System geben würde. $r_H = 7$ sagt also, das System hat dieselbe Reduktionskraft wie durch Palladium aktivierter Wasserstoff bei einem Druck von 10^{-7} Atmosphären. Es bedeuten ferner

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie und Parasitenkunde.

Zweite Abteilung. I. Band.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie und Parasitenkunde.

In Verbindung mit

Prof. Dr. **Adametz** in Krakau, Prof. Dr. **M. W. Beyerinck** in Delft, Prof. Dr. **A. B. Frank** in Berlin, Dr. **v. Freudenreich** in Bern, Prof. Dr. **Emil Chr. Hansen** in Kopenhagen, Dr. **Lindner** in Berlin, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Dr. **Erwin F. Smith** in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. **Stutzer** in Bonn, Privatdocent Dr. **Wehmer** in Hannover, Dr. **Weigmann** in Kiel, Dr. **Wilfarth** in Bernburg und Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg

herausgegeben von

Dr. Oscar Uhlworm in Cassel.

Zweite Abteilung. I. Band.

Mit 7 Tafeln und 35 Abbildungen im Texte.

Jena,
Verlag von Gustav Fischer.
1895.





für

Bakteriologie und Parasitenkunde.

Zweite Abteilung:

Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie und Pflanzenpathologie.

In Verbindung mit
Prof. Dr. **Adametz** in Krakau, Prof. Dr. **A. B. Frank** in Berlin, Dr. **v. Freudenreich** in Bern, Prof. Dr. **Emil Chr. Hansen** in Kopenhagen, Dr. **Lindner** in Berlin, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Prof. Dr. **Stutzer** in Bonn, Privatdoc. Dr. **Wehmer** in Hannover, Dr. **Weigmann** in Kiel, Dr. **Wilfarth** in Bernburg und Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg
herausgegeben von

Dr. O. Uhlworm in Cassel.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

I. Band. Jena, den 15. Januar 1895. **No. 1.**

Preis für den Band (26 Nummern) 16 Mark.

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde" richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige ***Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.***

Original-Mittheilungen.

Ueber Spirillum desulfuricans als Ursache von Sulfatreduction.

Von Dr. **W. M. Beyerinck**
in Delft.

Mit 4 Figuren.

1. Allgemeines.

Die Bildung von Schwefelwasserstoff und anderen Sulfiden unter dem Einfluß des Lebens ist eine Naturerscheinung von großem Umfange, und wichtig sowohl aus rein wissenschaftlicher Rücksicht, wie

aus geologischen und hygienischen Gründen. In biologischer Hinsicht liegt das Hauptgewicht des Vorganges in der Existenz einer ziemlich umfangreichen Flora und Fauna, spezifisch an Schwefelwasserstoff adaptierter Organismen, wozu Infusorien, Flagellaten und Bakterien gehören und wahrscheinlich auch mehrere grüne oder anders gefärbte Algen [1]). Die geologische Bedeutung erhellt schon daraus, daß der Schlamm von ganzen Seen und selbst von gewissen Meeren reich beladen ist mit Schwefeleisen. So soll der Boden des Schwarzen Meeres mit einer enormen, Schwefeleisen führenden Schlammschicht bedeckt sein, über welchem das Meereswasser bis zu einer beträchtlichen Höhe schwefelwasserstoffhaltig ist. In einer Tiefe von 2125 m wurden nicht weniger wie 6,5 cm^3 Schwefelwasserstoff pro Liter gefunden [2]). Die Hauptmasse dieser Schwefelverbindung rührt von der Reduktion von Sulfaten her, ein kleiner Teil dürfte auf schwefelhaltige Proteïnkörper zurückzuführen sein.

Braconnot ist wohl der Erste gewesen, welcher auf das Vorkommen von Schwefeleisen im schwarzen Kloakenschlamm und im Untergrunde der Stadt Nancy hingewiesen hat, und er glaubte an irgend einen Zusammenhang davon mit der Verbreitung der Cholera [3]). Seitdem ist es allgemein bekannt, daß dieser Körper an thonigen, abwechselnd trockenen und überfluteten Meeresküsten, sowie im Schlamme von Sümpfen, Teichen und Flüssen überall verbreitet ist, und dessen Entstehung unter Einfluß des Lebens dürfte ebenfalls allgemein anerkannt werden, wenn darüber in der Litteratur auch nur spärliche Angaben vorliegen. Hierzu kommt nun noch der merkwürdige Umstand, daß das Grundwasser der tieferen Bodenschichten, wenigstens in der Provinz Süd-Holland, vollständig, in der Provinz Gelderland ganz oder beinahe ganz schwefelsäurefrei ist, so daß die Frage sich erhebt, ob auch dieses auf einem durch Mikrobien bewirkten Reduktionsvorgang der mit dem Oberflächenwasser in die Tiefe sickernden Sulfate beruhen kann. Wenn diese Ansicht nun wirklich zutrifft, dürften die folgenden Vorgänge in den verschiedenen Bodenschichten stattfinden: 1) Nahe an der Oberfläche, jedoch nur dort, wo vollständiger Sauerstoffmangel herrscht (das Sulfidferment ist, wie wir später sehen werden, streng anaërobisch) Schwefelwasserstoffbildung aus der SO^4-Gruppe der Sulfate. 2) Ebendaselbst, oder höher oder tiefer, Bildung von Schwefeleisen aus Ferri- oder Ferroverbindungen, im Falle Ferrisalze einwirken unter Absetzung von reguliniscliem Schwefel. 3) Zersetzung des Schwefeleisens durch Kohlensäure unter Schwefelwasserstoffbildung. 4) Oxydation des Schwefeleisens oder des Schwefelwasserstoffs unter Sulfat- oder Schwefelbildung nahe der Oberfläche. 5) Bildung von Schwefelwasserstoff oder von Schwefelsäure aus etwa entstandenem freien Schwefel. Die Körper,

---

1) Die eigentliche an Schwefelwasserstoff adaptierte Fauna und Flora ist auf Brackwasser und Meerwasser angewiesen, und wir finden in unseren süßen Gewässern davon nur relativ wenige Repräsentanten. (Vergl. Warming, Danmarks Kyster-Bakterier. Kjøbenhavn 1876.)

2) Nature. Vol. XLVIII. 1893. p. 323.

3) Examen de la boue noire provenant des égouts. (Annales de Chimie et de Physique. T. L. 1832. p. 213.)

welche dabei in die Tiefe hineinsickern können, sind Calcium- und Ferrokarbonat, Schwefelverbindungen können, wenn im Boden Sulfat reduzierende Organismen genügend vorkommen, nicht tief unterhalb der Lagenstätte der letzteren anlangen. Die Ursache, warum der Schwefel bei diesen Umwandlungen immerfort das Bestreben hat, die Bodenoberfläche zu suchen, dürfte darin bestehen, daß der Diffusionsstrom des Schwefelwasserstoffes und anderer Sulfüre eben durch die Oxydation stets gezwungen ist, dem freien Sauerstoff, d. h. dem schwefelwasserstofffreien Raume entgegenzugehen, während eine Fortbewegung in die Tiefe durch Schwefeleisenbildung verhindert wird. Die Kohlensäure bildet dagegen eben in der Tiefe lösliche Salze, welche weiter in die Erde hineindringen können.

Nach dieser Theorie muß im Tiefwasser solcher Bodenarten, wo das Sulfidferment nicht leben kann, z. B. infolge von Sauerstoffzutritt, oder durch vollständige Abwesenheit von organischer Nahrung, Schwefelsäure vorkommen.

Die Form, worin das Schwefeleisen an den obengenannten Fundorten auftritt, ist entweder diejenige des unlöslichen einfachen Sulfides (FeS) oder des Hydrates davon. Das hydratische Sulfid kann unlöslich oder mit schwarzgrüner Farbe wasserlöslich vorkommen. Ueberdies giebt Gautier an[1]), daß in den Morasten auch Pyrit (FeS^2) gebildet werde, und zwar durch Oxydation von einfachem Schwefeleisen oder Eisenkarbonat bei Gegenwart von freiem Schwefelwasserstoff[2]). Vielleicht muß diese Reaktion also als sechster Vorgang in der oben angeführten Uebersicht wahrscheinlicher Etappen der Schwefelwanderung in der Erdoberfläche eingereiht werden. Jedenfalls erscheint die Frage nach der Verbreitung des biogenen Pyrites von großem Interesse.

Daß sich im Boden unter gewöhnlichen Verhältnissen kein gediegener Schwefel vorfindet, hängt offenbar mit dessen Unbeständigkeit bei Gegenwart von Wasser, worin lebende Bakterien vorkommen, zusammen, denn durch die letzteren wird das Element ziemlich leicht in Schwefelwasserstoff verwandelt. Dieses dürfte zunächst mit der Alkalibildung, welche so vielen Bakterien eigentümlich ist, zusammenhängen. Jedenfalls konnte ich mich überzeugen, daß der fein verteilte, durch Oxydation von Schwefelwasserstoff erzeugte Schwefel, ebenso leicht durch sehr verdünntes Ammon, wie durch Kontakt mit Wasserbakterien, bei Luftabschluß in einen Eisensalz schwärzenden Körper übergeht.

2. Die verschiedenen Bildungsweisen des biogenen Schwefelwasserstoffes.

Schwefelwasserstoff- oder allgemeine Sulfidbildung durch Mikroorganismen kann hauptsächlich auf folgende Weise stattfinden: Erstens durch Zersetzung schwefelhaltiger Proteïnkörper; zweitens

1) Comptes rendus. 1893. No. 26. p. 1494. „Aussi rencontre t'on le protosulfure de fer et la pyrite dans la vase des marais, dans les terrains provenant d'anciens dépôts riches en débris animaux ou végétaux et jusque dans le soussol des grandes villes."

2) Die Pyritablagerungen in den Steinkohlenflötzen dürften nach ihrem Ursprunge ebenfalls hierher gehören und auf unser Sulfidferment zurückzuführen sein.

direkt aus regulinischem Schwefel; drittens aus Sulfiden und aus Thiosulfaten, indem die Thiosulfate vorher in Schwefel und Sulfid zerlegt werden; viertens durch Sulfatreduktion.

Die beiden ersten Entstehungsweisen, aus Eiweiß und Schwefel, können sowohl unter Einfluß von Mikrobien wie ohne deren Vermittelung stattfinden. Aus Thiosulfaten wohl ebenfalls, doch ist hier der Chemismus, soviel ich weiß, noch wenig untersucht. Dagegen tritt die Sulfatreduktion unter den Bedingungen der bakteriologischen Versuche nur als biologische Erscheinung hervor.

In Bezug auf die Schwefelwasserstoffbildung direkt aus Proteïnkörpern sei daran erinnert, daß aus Eieralbumin einfach durch Kochen sich 0,1 Proz. Schwefelwasserstoff entwickelt, und daß die Würze der Brauereien und Preßhefefabriken beim vollständigen Ausschluß von Mikroorganismen dennoch beim Kochen neben einer geringen Kohlensäuremenge auch flüchtige Sulfide abgiebt [1]).

Der Uebergang von Schwefel durch den Kontakt mit gewissen, leicht zersetzlichen organischen Körpern in Schwefelwasserstoff war schon mehrfach Gegenstand der Forschung [2]). Blut, Eiweiß, Eidotter und Hefeextrakt seien in dieser Beziehung besonders genannt, ebenso die Säfte verschiedener thierischer Organe. Ob hierbei immer genügend Unterschied gemacht ist zwischen dem sich aus dem Schwefel und dem sich schon aus den verwendeten organischen Stoffen entwickelnden Schwefelwasserstoff, ist zweifelhaft. Boehm giebt an [3]), daß Quellenwasser mit Schwefelblumen in geschlossenen Flaschen bei Luftabschluß Schwefelwasserstoff entwickelt, während reines Wasser dieses nicht thut. Für Hefeextrakt liegen Angaben vor von Rey-Pailhade [4]), woraus erhellt, daß der schwefelwasserstofferzeugende Körper (welcher von R. Pailhade „Philothion“ genannt wird) in verdünntem Alkohol löslich ist, und daß das Extrakt, ähnlich wie Würze, bei dieser Zersetzung Sauerstoff absorbiert und Kohlensäure abgiebt. Zur Herstellung des Extraktes muß Hefe zerrieben und mit kaltem Wasser extrahiert werden. Die Aktivität geht durch Kohlen verloren, beruht also wahrscheinlich auf einen koagulierbaren Proteinkörper.

Die einfachste Weise, Schwefel in Schwefelwasserstoff überzuführen unter direktem Einfluß des Lebens, ist wohl durch Einführung von Schwefelblumen in irgend eine stark faulende Flüssigkeit oder in eine durch Alkoholhefe stark gärende Zuckerlösung. Ein Stück Bleipapier färbt sich in den Dämpfen solcher Flüssigkeiten schon in wenigen Minuten tiefbraun. Da dieses auch stattfindet in

1) Zeitschr. f. Brauwesen. Bd. XVII. 1894. p. 67. Hier findet man Arbeiten von Brand und Elion referiert. Daß Mikrobien dabei bedeutungslos sind, wird im Referate zwar nicht speziell hervorgehoben, folgt aber aus dem Wortlaute, und ich kann das aus eigener Erfahrung bestätigen.

2) Litteratur bei Rubner, Modus der Schwefelwasserstoffbildung bei Bakterien. (Arch. f. Hygiene. Bd. XVI. 1892. p. 58 und p. 78.) Es mag auch daran erinnert werden, daß Schwefel schon einfach durch kochendes Wasser Schwefelwasserstoff entwickelt, unter gleichzeitiger Bildung von schwefeliger Säure. (Cross & Higgins, Chemical News. Vol. XXXIX. 1875. p. 136.)

3) Monatshefte für Chemie. Bd. III. 1883. p. 224.

4) Comptes rendus, 1888, 11. Juni und 2. Juli, 18. Febr. 1889 und 22. Juni 1894.

mit rein kultivierter Hefe versetzten Rohrzuckerlösungen, so ist es sicher, daß die Funktion nicht Bakterien allein, sondern auch der Hefezelle zukommt. Bezüglich des hierbei obwaltenden Chemismus besteht Unsicherheit; vielleicht handelt es sich nur um den Einfluß eines aus den Hefezellen nach außen diffundierenden Stoffes, welcher dann identisch sein könnte mit dem aktiven Prinzip von Rey-Pailhade.

Die beiden folgenden einfachen Versuche über den biogenen Ursprung des Schwefelwasserstoffes aus Proteïnkörpern und aus regulinischem Schwefel sind für Demonstrationen geeignet.

Man fülle ein Kühne'sches Gärungskölbchen [1]) von 25 cm^3 Inhalt mit durch Kochen luftfrei gemachtem Fleischwasser und mit 0,1 Proz. Ferrolaktat oder Mohrsalz als Indikator; ein zweites ähnliches Kölbchen mit dem gleichen Gemisch, wozu noch überdies Schwefelblumen gegeben sind. Man infiziert mit einigen Tropfen Grabenwasser oder mit etwas Gartenerde und stellt beide in den Brütschrank bei 30° C. Sulfatreduktion findet in den genannten Flüssigkeiten nicht statt. Dennoch tritt in beiden Fällen schon nach 24 Stunden eine Schwärzung auf infolge von Schwefeleisenbildung. Es ist dabei dann bemerkenswert, daß im Kölbchen ohne Schwefel die Färbung bald eine Grenze erreicht, während sie in dem mit Schwefel versetzten Kölbchen viel länger fortschreitet und unter Absetzung von viel schwarzem Präzipitat die Flüssigkeit tief schwarz färbt.

Aus Thiosulfat läßt sich die Schwefelwasserstoffbildung leicht zeigen, wenn wachsende Hefezellen damit in Berührung sind. Ich versetze zu diesem Zwecke eine Würzegelatine mit ca. 0,1 Proz. Natriumthiosulfat ($Na^2S^2O^3 + 5H^2O$), bringe in die noch halbflüssige Masse eine Prise reiner Hefezellen und lasse nach dem Umschütteln im Kölbchen erstarren. In den Hals des Kölbchens wird ein Stück Bleipapier gehängt. Man bemerkt dann bei Zimmertemperatur nach einigen Tagen, wenn die Hefe kräftig zu wachsen beginnt, eine intensive Schwefelbleibildung.

Das Reduktionsvermögen der Hefe in Bezug auf Thiosulfat läßt sich auch sehr leicht in den Gärungen nachweisen. Läßt man z. B. eine 20-proz. Rohrzuckerlösung in Leitungswasser mit 15 Proz. frischer Preßhefe vergären, so wird man, wenn einer solchen Lösung $^1/_{20}$ Proz. Natriumthiosulfat zugesetzt wird, eine vollständige Zerlegung dieses Salzes unter Schwefelwasserstoffbildung nachweisen können.

Auch Sulfite werden unter den gleichen Verhältnissen zersetzt unter Abspaltung von H^2S. So konnte ich $^1/_{15}$ Proz. Natriumsulfit ($Na^2SO^3 + 7H^2O$) unter gleichen Bedingungen, wie beim Thiosulfat genannt, zum Verschwinden bringen und fand dafür nahezu die äquivalente Quantität H^2S zurück. Diese Vorgänge sind bemerkenswert, weil Nitrate, Nitrite, Indigkarmin und Lackmus durch Hefe nicht reduziert werden [2]).

---

1) T. Smith, The fermentation tube with special reference to anaerobiosis and gasproduction among Bacteria. (Reprint from the Wilder Quarter-Century Book. p. 187. Ithaca 1893.)

2) Andererseits werden Jodate durch Hefe reduziert unter Jodidbildung.

Auch Holschewnikoff's Bacterium sulfureum zerlegt Natriumthiosulfat unter H^2S-Bildung [1]).

Hier mag ebenfalls ein wenig bekannter Versuch von Zelinsky angeführt werden [2]).

Dieser Forscher beschreibt unter dem Namen Bacterium hydrosulfureum ponticum eine Mikrobie, welche aus folgendem Gemische Schwefelwasserstoff entwickelt: 1 Proz. Ammontartrat, 1 Proz. Traubenzucker, $^1/_3$ Proz. Natriumthiosulfat, 0,1 Proz. Kaliumphosphat und Spuren von Calciumchlorid. Im Referate wird ohne näheren Beleg auch noch angegeben, daß das Bakterium Sulfide und Sulfate zerlegen kann, und daß sowohl Aërobiose wie Anaërobiose dabei stattfindet. Eine bestimmte Angabe, aus welcher, bei Abwesenheit anderer Schwefelquellen, das quantitative Verschwinden einer bekannten Sulfid- oder Sulfatmenge und daraus das Hervortreten von Schwefelwasserstoff erhellt, wird im Referate nicht gegeben. In dieser letzteren Beziehung sind die anderen mir bekannten älteren Arbeiten über Schwefelwasserstoffbildung aus Sulfaten auch nicht genügend beweiskräftig [3]).

Eben dieser Umstand veranlaßte mich, die wichtigsten biogenen Bildungsweisen der Sulfide im allgemeinen hier kurz zu betrachten, denn bei den Versuchen über Sulfatreduktion, wobei es sich um den Nachweis von Sulfiden handelt, das ist von Körpern, wovon die geringsten Spuren schon sehr kräftig reagieren, muß man sich immer bewußt sein, aus welchen anderen Quellen als Sulfaten die etwa gefundenen Sulfide wohl herrühren können.

3. Zur Theorie der biogenen Schwefelwasserstoffbildung.

Die theoretischen Betrachtungen einiger Autoren über die chemische Ursache der Schwefelwasserstoffbildung durch Mikroorganismen sind einerseits durch die Vielheit der hierbei in Betracht kommenden Umstände, andererseits durch die Unbekanntheit, worin man bisher bezüglich des Hauptagens der Sulfatreduktion in unseren Gewässern war, nicht sehr wichtig.

Inzwischen dürften hier doch ein paar dieser Ansichten, welche von angesehenen Forschern herrühren, kurz erwähnt werden.

Mehrfach wurde die Hypothese ausgesprochen, der Vorgang be-

---

1) Fortschritte der Medizin. 1889. No. 6. (Citiert nach Baumgarten's Jahresbericht. Bd. V. 1889. p. 450.)

2) P. und C. G. Frankland, Microorganisms in water. 1894. p. 458. Hier findet man ein Referat von Prinz Krapotkin von einer russischen Abhandlung: „Zelinsky, Ueber Schwefelwasserstoffgärung im Schwarzen Meere und den „Limans von Odessa" aus Fortschr. d. russisch. chem. u. physikal. Gesellsch. Vol. XXV. 1893. Heft 5". Die Bakterien wurden im Schlamme des Schwarzen Meeres gefunden bei Gelegenheit der „Zaphorozhets"-Expedition.

3) Cohn, Archiv f. Mikrosk. Anatomie. Bd. III. 1867. p. 54. Loth. Meyer, Journal f. prakt. Chemie. Bd. XCI. p. 5. 184. Plauchud, Réduction des sulfates par les sulfuraires. (Compt. rendus. 29. Jan. 1877, 26. Dez. 1882.) Étard et Olivier, Réduction des sulfates par les êtres vivants. (Compt. rendus. T. XCV. 1882. p. 846.) Olivier, Glairine et Barégine. (Compt. rendus. T. CVI. 1888. p 1744, 1806.) Winogradsky, Botan. Zeitung. 1887. p. 490.

ruhe auf der Wirkung von Wasserstoff im status nascens, welcher durch die Mikrobien gebildet werden soll. Zur Erhärtung dieser Ansicht geben Petri und Maaßen an[1]), daß mit Wasserstoff beladenes Palladiummohr, aus in Wasser frei verteilten Schwefelblumen, sowie aus Lösungen von Thiosulfat, Eiweiß und Pepton bei 50° C Schwefelwasserstoff erzeugt, wenn man nur durch einen Wasserstoffstrom dafür sorgt, daß die Luft nicht zutreten kann. Ferner erwähnen diese Autoren auf p. 352 ihrer Abhandlung, daß Ammonsulfat Schwefelwasserstoff abgiebt durch Einwirkung von aus Zink mit Salzsäure erzeugtem Wasserstoff. Als ich jedoch mit reinem, schwefelfreien Zink in einer luftfreien 5%-proz. Ammonsulfatlösung diesen Versuch zu wiederholen suchte, konnte ich keinen Schwefelwasserstoff anzeigen, und in noch verdünnteren Lösungen ebensowenig. Ich muß deshalb glauben, daß die genannten Forscher sehr konzentriertes Ammonsulfat und ebenfalls sehr konzentrierte Salzsäure für ihren Versuch verwendet haben (indem ich natürlich voraussetze, daß ihnen schwefelfreies Zink vorlag), wobei dann ebenfalls eine konzentrierte Schwefelsäure entstehen mußte, welche leicht schwefelige Säure abgiebt, woraus mit Wasserstoff Schwefelwasserstoff entsteht; diese Reaktion ist aber sehr verschieden von den biologischen Vorgängen, worum es sich hier handelt.

Daß durch solche Analogieen der Chemismus der physiologischen Reduktion wirklich verständlicher werden sollte, vermag ich nicht recht einzusehen. Hierzu wäre es, um bei der Wasserstoffhypothese zu bleiben, dann doch notwendig, in den reduzierenden Zellen die Gegenwart des Wasserstoffs nachzuweisen, und nun steht es fest, daß bei dem von mir entdeckten Sulfidfermente kein Schatten von Wasserstoffbildung zu bemerken ist, und dasselbe gilt bezüglich der früher genannten Reduktionsvorgänge durch Hefe, worin noch von keinem Forscher die Gegenwart von Wasserstoff nachgewiesen ist[2]). Andererseits ergeben meine Versuche, daß in denjenigen Fällen, wo Wasserstoff faktisch entsteht, wie bei den Bakterien der Coli-Gruppe, und bei den anaëroben Granulobakterarten, welche, wie das Butylferment (Gr. butylicum) und die Buttersäurefermente (G. saccharobutyricum und G. lactobutyricum), massenhaft Wasserstoff produzieren und überdies Indigkarmin und Lakmus schnell reduzieren, das Vermögen, aus Sulfaten Schwefelwasserstoff zu bilden, fehlt.

Hoppe-Seyler hat versucht, den Vorgang in Zusammenhang zu bringen mit der Methangärung der Cellulose, welche bei Gegenwart von Gips und Eisenoxyd einen anderen Verlauf nimmt, wie bei Abwesenheit dieser Körper, und nur mit deren Mithilfe Schwefeleisen und Calciumkarbonat erzeugt. Hoppe-Seyler kann darum die Sulfatreduktion nicht als einen „selbständigen Prozeß, der

---

1) Beitr. z. Biologie der krankheitserregenden Bakterien, insbesondere über die Bildung von Schwefelwasserstoff durch dieselben unter vornehmlicher Berücksichtigung des Schweinerotlaufes. (Arb. des Kaiserl. Gesundheitsamtes. Bd. VIII. 1893. 350 p.)

2) Wasserstoffjonen werden sich allerdings wohl in den Hefezellen vorfinden, wären diese aber die Ursache der Reduktionsvorgänge, so müßte jede Säure ein Reduktionsmittel sein.

durch niedere Organismen ausgeführt wird"[1]), betrachten. Inzwischen erweist er nicht überzeugend, daß bei seinem Versuche nicht mehrere biologische Prozesse neben einander verlaufen sind. Nach meiner Ansicht ist das aber ganz sicher der Fall gewesen, und die folgenden Zeilen werden dafür den Beweis beibringen; denn es wird sich ergeben, daß die Reduktion des Calciumsulfates mit Bildung von Schwefelwasserstoff durch wenigstens einen spezifischen Erreger besorgt wird, der jedenfalls nicht direkt mit der Methanbildung zusammenhängt und Cellulose nicht angreift. Auch ist die Gegenwart von Eisensalzen für die Reduktion der Sulfate durchaus nicht notwendig. Bei Hoppe-Seyler's Versuch verschwindet Filtrierpapier unter Einfluß von Kloakenschlamm, und an seine Stelle tritt Methan mit Kohlensäure in die Erscheinung. Wenn nun angenommen wird, und es scheint mir kaum möglich, etwas Anderes anzunehmen, daß das Filtrierpapier vor der Vergärung in der Flüssigkeit gelöst vorkomme, dann ist es jedenfalls sehr begreiflich, daß auch noch andere Mikroorganismen, wie das übrigens noch problematische Methanferment, sich damit ernähren können.

Es wird dadurch dann erklärlich, warum das Verhältnis zwischen Kohlensäure und Methan, welches unter den normalen Versuchsbedingungen wie 1:10 war, durch Zusatz von Gips (und Eisenoxyd), wodurch das Leben des Sulfidbildners, sowie zahlreicher anderer Mikrobien infolge der Schwefelwasserstoffbildung gefördert oder ermöglicht wurde, in 10:1 übergehen konnte. Allerdings erfordert diese Erklärung die Gegenwart eines Celluloseenzyms in der Methangärung, während ein solches Enzym bisher noch ebensowenig entdeckt ist, wie das Methanferment selbst. Auch bei diesem Erklärungsversuche stößt man also auf Unsicherheiten, und es scheint mir auch eigentlich noch verfrüht, eine tiefere Theorie zur Begründung eines Vorganges aufzustellen, wovon die näher liegenden Ursachen noch so wenig bekannt sind, daß die relativ rohe Entdeckung des Sulfidfermentes erst jetzt gelungen ist.

In Bezug auf die direkte Verwandlung des regulinischen Schwefels in Sulfide bemerkte ich schon in § 1, daß dieser Vorgang, nach meiner Ansicht wahrscheinlich mit der Alkalibildung, welche so allgemein im Bakterienkörper stattfindet, zusammenhängt.

4. Zur quantitativen Bestimmung der Produkte der Sulfatreduktion.

Für unseren Zweck ist zu empfehlen, den bei der Reduktion entstehenden Schwefelwasserstoff jodometrisch zu bestimmen. Wenn auch ein Teil des Reduktionsproduktes als Sulfür (z. B. als CaS, FeS oder $(NH^4)^2S$) oder als Sulfydrat (NH^4HS oder NaHS) gegenwärtig ist, muß daraus doch in sauerer Lösung, worin die Bestimmung stattfindet, Schwefelwasserstoff entstehen, so daß die Gegenwart solcher Körper die Berechnung nicht stört, und einen Schluß gestattet auf die Quantität der durch Reduktion verschwundenen Schwefelsäure.

1) Ueber die Zersetzung der Cellulose mit Bildung von Methan. (Zeitschr. f. physiolog. Chemie. Bd. X. 1886. 432 p.)

Inzwischen finde ich bei meinen Versuchen immer viel weniger Schwefelwasserstoff als theoretisch für das verschwundene Sulfat, wenn dieses ganz in Sulfid übergeführt wäre, gefordert wird. Die Abweichungen sind sehr groß, nur $^1/_2$, $^2/_3$ und im günstigsten Falle $^3/_4$ des verschwundenen Sulfates konnten als Schwefelwasserstoff titriert werden. Es ist deshalb nötig, zu erwägen, wo der Rest des Schwefels gesucht werden muß.

Es dürfte hierbei besonders an drei Hauptquellen eines „Schwefelverlustes" gedacht werden, nämlich die Abscheidung von regulinischem Schwefel aus den Sulfiden, die Bindung von Schwefel als Sulfit oder Thiosulfat und die Bindung des Schwefels beim Aufbau der organischen Bakteriensubstanz [1]).

Betrachten wir jeden der genannten Faktoren etwas näher.

Da es bei der bakteriologischen Untersuchung der Sulfatreduktion nötig ist, einen empfindlichen Indikator zu verwenden, ist dabei der Gebrauch von Ferro- oder Ferrisalzen sehr zu empfehlen. Für die quantitative Untersuchung entsteht dadurch jedoch eine Unsicherheit, da eben die Eisensalze sehr leicht zu Schwefelabtrennung veranlassen. Für die Ferrisalze gilt dieses selbst bei vollständigem Luftabschlusse [2]); für Ferrosalze bei Luftzutritt [3]). Hierbei muß ebenfalls wohl bedacht werden, daß Schwefelwasserstoff bei Luftzutritt an sich leicht zu Schwefel und Wasser oxydiert und daß dieses auch teilweise stattfindet beim Schwefeleisen [4]).

Bei der quantitativen Bestimmung muß nun zwar jedenfalls bei Luftabschluß experimentiert werden. Da jedoch Schwefel, welcher beim bakteriologischen Versuche durch irgend eine Ursache einmal abgeschieden ist, nur langsam in Sulfid zurückkehrt, und bei jeder Titrierung beinahe unvermeidlich etwas Luft zutritt, wodurch eine kleine Menge Schwefel im Kulturgefäße entsteht, welche bei einer folgenden Titrierung noch nicht verschwunden ist, so sieht man, daß mehrere Ursachen vorliegen, wodurch infolge von Schwefelbildung eine genaue Uebereinstimmung zwischen reduziertem Sulfat und gefundenem Schwefelwasserstoffe nicht zu erwarten ist. Bei meinen Versuchen habe ich, wie gesagt, im günstigsten Falle ca. $^3/_4$ des verschwundenen SO^3 als H^2S titrieren können, meistens kam ich nur auf $^2/_3$ und oft selbst nur auf $^1/_2$ der Totalmenge. Da im allgemeinen die Versuche ein desto höheres Schwefelwasserstoff ergeben, je größer die verwendeten zu reduzierenden Flüssigkeitsmassen sind, ist es deutlich, daß dabei die Luft oder das Eisenoxyd wohl infolge der Schwefelabscheidung eine beträchtliche Rolle mitspielen, doch glaube ich, daß daraus zugleich hervorgeht, daß die Abweichung so groß ist, daß sie nicht allein durch Schwefelabtrennung (oder Sulfatrückbildung während des Versuches) erklärt werden kann, sondern daß auch die anderen beiden Verlustquellen mitwirken müssen. (Fortsetzung folgt.)

---

1) Ich glaube nicht, daß bei meinem Versuchsverfahren an die Entstehung von Polysulfüren gedacht werden kann.

2) $Fe^2(OH)^6 + 3H^2S = 2FeS + S + 6H^2O$
$Fe^2Cl^6 + 3(NH^4)^2S = 2FeS + S + 6NH^4Cl$.

3) $2FeS + 3O = Fe^2O^3 + 2S$.

4) $FeS + 4O = Fe^2SO^4$; hierbei entstehen zugleich Ferriverbindungen und findet wieder Schwefelabtrennung statt.

Ueber den Einfluss von Kupfervitriol auf die Vergärung von Traubenmost durch Saccharomyces ellipsoïdeus.

[Aus der pflanzenphysiologischen Versuchsstation der königl. Lehranstalt zu Geisenheim a. Rhein.]

Von

Dr. Friedr. Krüger

in

Berlin.

Seit einigen Jahren werden in einem großen Teile der weinbautreibenden Länder die Rebstöcke mit Bordelaiser Brühe bespritzt, um sie vor einer Infektion durch Peronospora viticola zu schützen. Es ist hierbei nun ganz unvermeidlich, daß auch die Trauben, namentlich wenn die Bespritzungen etwas spät vorgenommen werden, einen mehr oder minder starken Kupferkalküberzug erhalten. Derselbe kann allerdings im Laufe des Herbstes zum größten Teile durch den Regen wieder abgewaschen werden, teilweise indessen kann er sich bis zur Lese auf den Trauben erhalten und gelangt dann bei der Kelterung mit in den Most.

Dieser Uebelstand gehört nun mit zu den Gründen, welche die Gegner des Bespritzungsverfahrens gegen dasselbe ins Feld führen. Es soll nämlich nach deren Behauptung durch einen solchen Kupfergehalt die Vergärung des Mostes verzögert werden.

Daß ein hoher Kupfergehalt den Eintritt der Gärung, sowie den Verlauf derselben verlangsamen, ja auch teilweise oder ganz unterdrücken kann, liegt ja auf der Hand. Pichi[1]) und Rommier[2]) haben dies direkt durch Untersuchungen bestätigt.

Rommier versetzte je 40 ccm Most mit einer Menge Kupfersulfat, die einem Gehalte von 1, 2, 3, 4 mg Kupfer entsprach, und fand, daß die Sprossung der Hefe erst nach 30, 68, 96 u. s. w. Stunden begann, die Gärung dagegen erst nach 60, 80 u. s. w. Stunden eintrat, während in dem Moste ohne Kupferzusatz schon nach 24 Stunden eine Gärung zu bemerken war.

Pichi nahm zu seinen Untersuchungen je 100 ccm Most und steigerte deren Kupfervitriolgehalt in der Weise, daß er, ohne Zusatz beginnend, jeder folgenden Flasche 0,0003 g Kupfersalz mehr hinzusetzte. Hierbei konstatierte er, daß ein Gehalt von 0,015 Proz. gar keinen Einfluß auf die Vergärung ausübt, daß aber größere Mengen schädigend wirken, indem sie die Gärung verlangsamen und sie schließlich auch nur unvollkommen sich entwickeln lassen.

---

1) Pichi, Sopra l'azione del sali di rame nel mosto di uva sul Saccharomyces ellipsoïdeus. (Nuova Rass. di vitic. ed. enol. Conegliano 1891.)

2) Rommier, Sur la diminution de la puissance fermentescible de la levure ellipsoïdale de vin, en présence des sels de cuivre. (Compt. rend. Tome CII. 1890. p. 536.)

Den schädlichen Einfluß, den ein höherer Kupfergehalt des Mostes auf die Gärung ausüben kann, bestätigen demnach beide Autoren, doch gehen ihre Angaben über die Kupfermengen, bei denen sich eine derartig schädigende Einwirkung geltend macht, sehr bedeutend auseinander. Während nach Rommier ein Gehalt von 0,0025 Proz. Kupfer, also von 0,00977 Proz. krystallisiertem Kupfersulfat ($CuSO_4 + 5H_2O$) schon schädlich wirkt, hat nach Pichi ein solcher von 0,015 Proz. noch gar keinen Einfluß. Uebereinstimmend erwähnen aber beide Autoren nur: schädlichen Einfluß oder gar keine Einwirkung.

Nun liegen aber auch seit einiger Zeit zahlreiche Beobachtungen vor, daß manche Substanzen, die in größeren Dosen nachteilig auf den Organismus der Pflanzen einwirken, in bedeutend geringeren Mengen günstigen und anregenden Einfluß auf denselben ausüben. Dies ist in jüngster Zeit speziell auch vom Kupfervitriol nachgewiesen [1]).

Daß diese fördernde Eigenschaft des Kupfervitriols sich auch für die Gärthätigkeit der Hefe bestätigt, hat Biernacki [2]) experimentell konstatiert. Er benutzte bei diesen Untersuchungen 5 ccm einer 5-proz. Glykoselösung, die er mit 5 ccm der Lösung des betreffenden Antiseptikums und 0,2 g Preßhefe versetzte, und konstatierte, daß bei einer derartig zusammengesetzten Lösung für Kupfervitriol die schwächste aufhebende Konzentration 1 : 4000, dagegen die stärkste beschleunigende Konzentration 1 : 600 000 beträgt. Biernacki stellte daher den Satz auf, daß die gärungshemmende Wirkung der Antiseptika — in diesem speziellen Falle also die des Kupfervitriols — bei stärkerer Verdünnung immer mehr abnimmt, um schließlich ins Gegenteil umzuschlagen, so daß also nach weiterer Verdünnung eine Beschleunigung der Gärung stattfindet. Von einem derartigen, die Gärung anregenden Einflusse des Kupfervitriols scheint aber weder Pichi noch Rommier etwas beobachtet zu haben.

Infolge der so verschiedenen Resultate, die diese drei Autoren erhalten hatten, wurde mir im Wintersemester 1893/94, in dem ich als Assistent an der pflanzenphysiologischen Versuchsstation der königl. Lehranstalt für Obst- und Weinbau zu Geisenheim thätig war, von dem Leiter derselben, Herrn Dr. Wortmann, dem ich gleich an dieser Stelle für die mir dabei gewährte Unterstützung meinen ergebensten Dank ausspreche, der Auftrag zu teil, gleichfalls Untersuchungen über die Vergärung von Traubenmostproben anzustellen, denen verschiedene Mengen Kupfervitriol zugesetzt waren.

---

1) Rumm, Ueber die Wirkung der Kupferpräparate bei der Bekämpfung der sog. Blattfallkrankheiten. (Berichte der Deutsch. bot. Gesellsch. 1893. Heft 2. p. 79—94.) — Richet, De l'action de quelques sels métalliques sur la fermentation lactique. (Compt. Rend. CXIV. p. 1492 u. ff. Cit. nach Ref. in Koch's Jahresber. 1892. p. 170.) — Frank und Krüger, Ueber den direkten Einfluß der Kupfervitriolkalkbrühe auf die Kartoffelpflanze. (Arbeiten der Deutsch. Landw. Gesellsch. Hft. 2.) Vergl. hier auch die weiteren Litteraturangaben.

2) Biernacki, Ueber die Eigenschaft gewisser Antiseptika, die Alkoholgärung zu beschleunigen u. s. w. (Pflüger's Archiv. XLIX. 1891. p. 112.) Siehe hier auch die weiteren Litteraturangaben.

Die zur Vergärung verwendeten Hefen waren rein gezüchtete Rassen von Saccharomyces ellipsoïdeus.

Die Versuche sollten ursprünglich mit verdünntem sizilianischen Moste angestellt werden, dem in den verschiedenen Flaschen Kupfervitriol im Verhältnis von 1 : 1000000 bis hinauf zu 1 : 10000 zugesetzt war. Durch tägliches Wägen der einzelnen Flaschen beabsichtigte ich dann, festzustellen, um wie viel das Gewicht der einzelnen Gefäße innerhalb 24 Stunden abgenommen hatte, woraus sich entnehmen ließ, wie viel Zucker in Kohlensäure und Alkohol umgesetzt war, wie energisch sich demnach der Verlauf der Gärung innerhalb der einzelnen, mit verschiedenen Kupfersalzmengen versetzten Mostproben in 24 Stunden vollzogen hatte. Allein schon nach den ersten Wägungen war es zweifellos, daß hier irgend welche Nebeneinflüsse störend auftraten. Es waren die Gewichtsdifferenzen innerhalb der einzelnen Flaschen fast dieselben, und bei der sonst so intensiven Wirkung, die das Kupfervitriol, namentlich in wässeriger Lösung, auf den pflanzlichen Organismus ausübt, war es doch ganz unwahrscheinlich, daß die Gärungsdifferenzen in gleichen Mostmengen, die so sehr verschiedene Quanta von aufgelöstem Kupfervitriol enthielten, unter normalen Verhältnissen so gering ausfallen konnten.

Eine zweite Serie von Versuchen, die in genau derselben Weise wie die erste angestellt wurde, verlief ganz ähnlich.

Daß im Verlaufe der Gärung das im Moste vorhandene, in Lösung befindliche Kupfersalz wenigstens teilweise niedergeschlagen wird, ist schon mehrfach festgestellt worden [1]). Da aber die erwähnte Gleichmäßigkeit der Vergärung schon im Anfange des Versuches auftrat, und da ferner selbst in demjenigen Moste, der den größten Kupfervitriolgehalt, nämlich 1 : 10000, enthielt, die Gärung noch eine sehr lebhafte war, so lag die Vermutung nahe, daß das Kupfersalz oder ein erheblicher Teil desselben überhaupt gleich im Beginne des Versuches durch irgend welche Nebeneinwirkung als unlösliches Salz abgeschieden war und deshalb auch nicht zur Geltung kam.

Durch eine doppelte Versuchsreihe in kleinerem Maßstabe versuchte ich nach dieser Richtung hin Aufklärung zu verschaffen. In der ersteren gab ich den Mosten einen weit höheren Kupfergehalt, als vorher, und ließ sie vergären; in der zweiten wurde das Kupfervitriol zu solchen Mostproben gethan, die gar keinen Hefezusatz bekommen hatten, also steril bleiben mußten. Hierdurch sollte das Verhalten des Kupfervitriols zum reinen Moste, ohne Hefe, festgestellt werden.

Für die erste Gruppe dieser Untersuchungen wurde eine Anzahl von Kolben, die je 50 ccm sterilisierten sizilianischen Most, im Verhältnisse 1 : 5 mit Wasser verdünnt, enthielten, mit einer berechneten und für die einzelnen Gefäße verschiedenen Menge von Kubikcentimetern einer starken wässerigen Kupfervitriollösung versetzt. Von den auf solche Weise verschieden stark gekupferten Mostproben

---

1) Tschirch, Das Kupfer vom Standpunkte der gerichtlichen Chemie, Toxikologie und Hygiene u. s. w. Stuttgart (Enke) 1893. p. 55.

wurden 4 mit je $^3/_4$ Millionen Zellen einer 4 Wochen alten Würzburger Steinhefe beschickt. Vier andere solcher Kolben erhielten in derselben Weise eine Million Zellen einer Johannisberger Schloßhefe, die etwa 11 Tage alt waren. Die Bedingungen, unter denen dann die einzelnen Gefäße standen, waren die nämlichen. Selbstverständlich können wegen der verschiedenen Rassen der verwendeten Hefen, wegen der verschiedenen Menge der zugesetzten Zellen, sowie wegen des verschiedenen Alters derselben nur die einzelnen Gefäße der beiden Serien unter sich, nicht aber die beiden Versuchsreihen unter einander verglichen werden.

Die Intensität der Gärung wurde, wie schon oben erwähnt, durch tägliche Wägung zu derselben Tagesstunde, also immer für einen Zeitraum von 24 Stunden, ermittelt. Die erhaltenen Werte, also die Menge des produzierten Kohlensäure in Grammen ausgedeuckt, sind in den beiden nachfolgenden Tabellen A und B zusammengestellt.

Tabelle A.

Würzburger Stein.

1894	I 1 : 10000	II 1 : 1500	III 1 : 1000	IV 1 : 500
11. Januar	0,23	0,18	0,13	0,04
12. „	0,43	0,28	0,14	0,12
13. „	0,47	0,47	0,41	0,10
14. „	0,56	0,48	0,37	0,22
15. „	0,48	0,46	0,32	0,37
16. „	0,58	0,44	0,38	0,39
17. „	0,62	0,53	0,42	0,44
18. „	0,37	0,38	0,27	0,30
19. „	0,34	0,44	0,33	0,35
20. „	0,24	0,43	0,40	0,37
21. „	0,11	0,27	0,42	0,34
22. „	0,10	0,20	0,34	0,37
25. „	0.38	0,44	0,72	1,18
29. „	0,45	0,47	0,51	0,66

abgebrochen.

Tabelle B.

Johannisberger Schloß.

1894	I 1 : 20 000	II 1 : 10 000	III 1 : 1000	IV 1 : 500
11. Januar	0,23	0,22	0,22	0,18
12. „	0,42	0,37	0,35	0,26
13. „	0,55	0,51	0,52	0,44
14. „	0,55	0,49	0,52	0,47
15. „	0,54	0,45	0,48	0,39
16. „	0,55	0,56	0,56	0,40
17. „	0,47	0,58	0,56	0,44
18. „	0,36	0,39	0,33	0,31
19. „	0,33	0,41	0,40	0,37
20. „	0,27	0,30	0,27	0,34
21. „	0,12	0,10	0,11	0,29
22. „	0,10	0,11	0,12	0,25
25. „	0,39	0,34	0,33	0,81
29. „	0.52	0,51	0,50	0,56

abgebrochen.

In beiden Serien trat selbst in dem stärkst gekupferten Moste, der infolge des Kupfergehaltes grünlich gefärbt war, die Gärung noch ein, jedoch war in diesem Anfangsstadium die Intensität in den stärker gekupferten Mosten wesentlich geringer, als diejenige in den schwächer gekupferten, wie dies aus beiden obigen Tabellen hervorgeht. Nach einiger Zeit aber verschwanden die Unterschiede mehr und mehr, um schließlich einem Umschwunge in der Gärungsintensität in dem Sinne Platz zu machen, daß die stärker gekupferten Moste heftiger gärten, als diejenigen mit dem geringeren Kupfergehalte.

Gleichzeitig war im Laufe der Vergärung die grüne Farbe der Moste von größerem Kupferzusatz immer mehr und mehr geschwunden und schließlich war in der Farbe der einzelnen Gärflüssigkeiten überhaupt kein Unterschied mehr vorhanden. Dagegen hatten sich am Boden der stärker gekupferten Moste beträchtliche Mengen eines in Wasser unlöslichen grünen Salzes, vermutlich eines Doppelsalzes von Kupfer mit organischen Säuren, angesammelt. Diese allmähliche Abscheidung, also der successive Eintritt des Kupfers in eine unlösliche und damit unwirksame Verbindung war wohl hauptsächlich der Grund des allmählichen Ueberganges des Intensitätsmaximums von den schwächer zu den stärker gekupferten Mosten, da ja nach der Abscheidung des die Gärung mehr oder weniger hemmenden Kupfers die Hefe in stärkere Thätigkeit treten kann und nun in dem anfänglich zurückgebliebenen Moste einen größeren gärungsfähigen Zuckervorrat findet, als in demjenigen, in welchem sich die Hauptgärung bereits vollzogen hat.

Es war demnach durch diese beiden kleinen Versuche mit der Johannisberger und der Würzburger Hefe einmal festgestellt, daß ein großer Kupfergehalt die Gärung allerdings verzögert, daß indessen selbst bei schon ziemlich erheblichen Mengen von Kupfersalz dieselbe doch noch eintritt. Ferner aber wurde ich dadurch in meiner Vermutung bestärkt, daß auch bei meinen ersten Versuchen, wo ich nur so geringe Mengen von Kupfervitriol verwendet hatte, dieses wohl gleich im Anfange, wie schon erwähnt, als unlösliches Salz ausgeschieden war.

Bestätigung fand diese Mutmaßung durch die zweite der schon oben angedeuteten Versuchsreihen, welche das direkte Verhalten von Kupfervitriol und Most zu einander, ohne Hefezusatz, klar stellen sollte. Je 50 ccm verdünnten (1+5) sizilianischen Mostes wurden mit so viel starker wässeriger Kupfervitriollösung versetzt, daß derselbe 0,5 Proz. Kupfervitriol enthielt. Die Flaschen wurden dann teils sich selbst überlassen, teils erhielten sie noch einen Zusatz von 8 Proz. Alkohol. Schon nach wenigen Stunden war im durchfallenden Lichte innerhalb der einzelnen Flaschen ein eigentümliches Glitzern, wie von ganz feinen ausgeschiedenen Krystallen, bemerkbar. Nach 24 Stunden hatte sich in allen Flaschen ein grüner Niederschlag, ähnlich dem in den obenerwähnten Gärversuchen, gebildet. Nach 48 Stunden betrug derselbe in den Flaschen ohne Alkoholzusatz 0,1501, 0,1885 und 0,1732 g, in denjenigen mit Alkohol 0,2591 und 0,2612 g. In vier anderen Flaschen, die in derselben Weise hergerichtet waren, hatten sich nach 7 Tagen ausgeschieden: ohne Al-

koholzusatz 0,2471 und 0,2648 g, mit Alkoholzusatz 0,2986 und 0,2863 g grünes Salz.

Bei der quantitativen Bestimmung des im Moste noch in Lösung gebliebenen Kupfersalzes führte die sonst übliche Methode, das Kupfer durch Reduktion aus dem Kupferoxydul gewichtsanalytisch zu bestimmen, und die Menge des Kupfersalzes daraus zu berechnen anfänglich auf Schwierigkeit, weil der hohe Zuckergehalt das Ausfällen verhinderte. Dieser Uebelstand ließ sich indessen überwinden. Dadurch, daß zu dem zu untersuchenden Moste so viel Kupfervitriol zugesetzt wurde, daß die Flüssigkeit in Bezug auf Zucker- und Kupfergehalt etwa den Grenzen der Fehling'schen Lösung entsprach, und daß dann dem Gemische noch eine annähernd entsprechende Seignettesalzlösung beigegeben wurde, gelang es, nach dem Aufkochen einen schönen Niederschlag von Kupferoxydul, herrührend aus dem ursprünglich noch in Lösung verbliebenen und dem nachträglich zugesetzten Kupfersalze, sowie ferner ein von diesem Niederschlage abfiltriertes kupferfreies Liquidum zu erhalten. Aus dem so gewonnenen Niederschlage wurde dann nach weiterer Reduktion und Umrechnung des erhaltenen Kupfers in krystallisiertes Sulfat und Abzug des nachträglich zugesetzten Kupfervitriols die ursprünglich noch gelöst im Moste verbliebene Kupfersalzmenge berechnet.

Auch durch diese Methode wurde das schon früher gewonnene Resultat bestätigt, daß nämlich ein großer Teil — etwa die Hälfte — der bei diesen Versuchen dem Moste zugesetzten Kupfermengen als unlöslich schon nach 2—3 Tagen ausgeschieden und somit für die Vergärung unwirksam war.

Nach diesen Erfahrungen war also auf dem eingeschlagenen Wege, d. h. durch Zusatz von wässeriger Kupfervitriol-Lösung zu verdünntem sterilisierten sizilianischen Most, nichts zu erreichen. Allerdings hätte ja vielleicht in der eben erwähnten Weise, nachdem die Gefäße einige Tage ohne Hefezusatz gestanden hatten, für jedes einzelne der noch in Lösung gebliebene Kupfergehalt bestimmt, und darauf erst die Gärung eingeleitet werden können. Da es sich aber bei diesen Versuchen doch nur um sehr geringe Kupfermengen, demnach also auch nur um sehr geringe Quantitätsdifferenzen handelte, andererseits aber auf die ganz genaue Bestimmung der Mengen und Differenzen in den einzelnen Mosten alles ankam, die doch um so schwieriger wird, je umständlicher das Verfahren ist, so war jeder andere gangbare Weg vorzuziehen.

Aus diesem Grunde änderte ich den früheren Versuch in der Weise ab, daß ich einen weniger zuckerreichen Most benutzte, der von Trauben der Weinberge der Königlichen Lehranstalt stammte, und daß ich den Kupfervitriol-Zusatz anders einrichtete.

Durch einen Vorversuch war nämlich festgestellt, daß sich bei Zusatz von Kupfervitriol zu dem Anstaltsmost allerdings auch etwas von dem oben erwähnten grünen Salz ausschied, daß es sich aber hier um wesentlich geringere Mengen handelte, als bei dem sizilianischen Most, und ferner, daß, nachdem diese Ausscheidung einmal stattgefunden hatte, die Flüssigkeit beliebig mit Most verdünnt werden konnte, ohne daß weitere Abscheidungen erfolgten.

Ich stellte daher den Kupferzusatz, der den einzelnen Flaschen mit Most in verschiedenen Mengenverhältnissen beigemischt werden sollte, in der Weise her, daß zunächst aus heiß konzentrierter wässeriger Kupfervitriollösung durch Auffüllen eines berechneten Quantums Anstaltsmost eine etwa 5-proz. Lösung hergestellt wurde. Diese Lösung blieb dann einige Tage bei einer Temperatur stehen, die etwa derjenigen entsprach, der die einzelnen Flaschen später bei der Vergärung ausgesetzt werden sollten. Als die Ausscheidung des grünen Satzes aufgehört hatte, wurde in einem Teil der Lösung, der im Verhältnis 1:10 mit Wasser verdünnt war, in der oben beschriebenen Weise das noch in Lösung befindliche Kupfer quantitativ bestimmt. Es betrug noch 4,237 Proz. Gleichzeitig wurden dann mit dieser ursprünglich 5-proz. Lösung die Gärflaschen beschickt, und zwar in der Weise, daß eine Anzahl von ganz gleichen Flaschen, in denen sich je 500 ccm von sterilisiertem Anstaltsmost befanden, die berechneten Kubikcentimeter Kupferlösung als Zusatz erhielten.

Hierbei wurde zunächst wegen Einfachheit bei der Herstellung angenommen, daß die zugesetzte Kupferlösung 5-proz. sei. Nach der Umrechnung auf 4,237 Proz. enthielten die einzelnen Versuchsmoste das Kupfervitriol in folgenden Mengenverhältnissen:

I.	1 : 5377	d. i.	0,092803	g krist. Kupfersulfat in 500 ccm Most oder	0,01856	%
II.	1 : 10757	„	0,046479	„ „ „ „ „ „ „	0,00929	„
III.	1 : 22717	„	0,0220112	„ „ „ „ „ „ „	0,004402	„
IV.	1 : 28122	„	0,0177785	„ „ „ „ „ „ „	0,003556	„
V.	1 : 56224	„	0,00889364	„ „ „ „ „ „ „	0,001779	„
VI.	1 : 84317	„	0,0059301	„ „ „ „ „ „ „	0,001186	„
VII.	1 : 222717	„	0,0022454	„ „ „ „ „ „ „	0,000449	„
VIII.	Most ohne Kupfer		0	„ „ „ „ „ „ „	0	„

Die so hergerichteten Moste wurden dann vor dem Hefezusatz noch erst 3 Tage beobachtet. Da sie völlig klar und ohne Bodensatz blieben, alles Kupfer sich also noch in Lösung befand, so erhielten sie nun einen Zusatz von je 1 ccm einer wässerigen Hefeaufschwemmung, was nach vorgenommener Zählung etwa $^1/_2$ Million Hefezellen entsprach. Während bei den früheren Versuchen Würzburger Steinhefe benutzt war, verwendete ich jetzt eine andere, nämlich Johannisberger Schloßhefe, weil letztere nach Wortmann's Erfahrungen empfindlicher ist, als die erstere, und demnach auch vielleicht deutlicher gegen Kupfer reagiert. (Schluß folgt.)

Umbildung eines Aspergillus in einen Saccharomyceten.

Vorläufige Mitteilung

von

John J. Juhler (U. S. of A.).

Durch Versuche, die ich im gärungsphysiologischen Laboratorium des Herrn Alfred Jörgensen zu Kopenhagen vorgenommen habe, ist es mir gelungen, nachzuweisen, daß eine Aspergillusart unter

gewissen Bedingungen alkoholbildende Saccharomyceszellen hervorbringt.

Hierdurch wurde somit zum erstenmale experimentell nachgewiesen, daß die Saccharomyceten von höheren Pilzen abstammen.

Kopenhagen, November 1894.

Die von Herrn Juhler gemachte Beobachtung, daß ein Aspergillus in einen alkoholbildenden Saccharomyceten umgebildet wird, kann ich bestätigen.

Ich habe direkt, durch Beobachtung mittels feuchter Kammern, die genetische Verbindung zwischen Schimmelpilz und Hefenpilz beobachtet. Eine ausführliche morphologische Behandlung der Verhältnisse wird demnächst meinerseits erscheinen.

Kopenhagen, 19. November 1894.

Alfred Jörgensen,
Direktor des gärungsphysiologischen Laboratoriums.

Zusammenfassende Uebersichten.

Ueber Buttersäuregärung.

Von

Dr. Eduard Baier,
Assistenten a. d. bakteriol. Abteilung der landwirtschaftlichen Versuchsstation in Kiel.

Die spontane Milchsäuregärung ist, wie sich aus der Zusammensetzung ihrer Gärungsprodukte ergiebt, als der einfachste Gärungsvorgang, der durch Bakterien zustande kommt, anzusehen. Die grundlegenden Arbeiten darüber stammen von Pasteur[1]), Lister[2]) und besonders Hueppe[3]), sowie noch einigen anderen Forschern. Die Hueppe'sche Auffassung über den Milchsäuregärungsprozeß ist heute noch maßgebend. Eingehende, schon seit mehreren Jahren von meinem Chef, Herrn Dr. Weigmann, und in neuerer Zeit auch mit meiner Beihilfe gemachte Studien hierüber lehren uns jedoch, daß die Einwirkung der eigentlichen Milchsäurebakterien, wie solche bei jeder normal spontan gesäuerten Milch in großer Zahl gefunden werden, ein einheitlicherer und einfacherer Gärungsprozeß ist, als nach den Untersuchungen und Darstellungen Hueppe's anzunehmen ist. Ich beschränke mich auf diese vorläufig kurze Andeutung über die Untersuchungsergebnisse auf dem Gebiete der Milchsäuregärungen, die nach dem vollständigen Abschlusse der Arbeit in Bälde in dieser Zeitschrift Veröffentlichung finden werden.

---

1) Compt. rend. T. XLV. 1857. p. 913.

2) Quarterly Journal of Microscopical Science. Vol. XIII. 1873. p. 380; Vol. XVIII. 1878. p. 177.

3) Mitteilungen aus dem kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. II. 1884. p. 309.

Wesentlich verschieden von der Milchsäuregärung verläuft die Buttersäuregärung. Dieselbe ist, soweit bekannt, immer von komplizierterer Natur, mit tiefgreifenden Zersetzungen des Nährsubstrates verbunden und dadurch anderen biologischen Erscheinungen untergeordnet, bezw. also davon abhängig, kurz — das Auftreten von Buttersäure ist als das sekundäre Produkt der Wirkung von Bakterien anzusehen, die schlechtweg, da sie thatsächlich auch Buttersäure produzieren, als Buttersäurebakterien benannt und bezeichnet sind. Die Milchsäuregärung besteht in der Umwandelung von Saccharosen, namentlich sehr leicht von Milchzucker in Milchsäure unter gleichzeitiger Bildung ganz minimaler Mengen von anderen Produkten. Die Nährflüssigkeiten nehmen dabei eine saure Reaktion an; in Milch wird durch die entstandene Milchsäure das Kaseïn aus seiner Verbindung mit Kalk ausgelöst und fällt aus. Anders verhält sich die Einwirkung der Buttersäureerreger auf Nährmedien. Die früher gefaßte und auch heute noch giltige Meinung über die Buttersäuregärung geht dahin, daß dieselbe eine Begleiterscheinung der verschiedenartigsten Eiweißzersetzungen und der Spaltung von Zuckerstoffen ist. Die Gerinnung des Milchkaseïns erfolgt unter neutraler oder alkalischer Reaktion und kommt durch die Wirkung eines von den Bakterien abgesonderten labartigen Ferments zustande. Die Buttersäuregärung bildet somit sozusagen das Endprodukt eines größeren und längeren Gärungsvorganges und wird durch Fermentgerinnung eingeleitet. Nach neueren Untersuchungen, wie unten gezeigt werden wird, ist dies jedoch, wie es scheint, nicht bei allen Buttersäurebildnern der Fall. Eine sichere Aufklärung über die eine wie über die andere Erklärung des Zustandekommens der Buttersäuregärung bezw. des Verhaltens der sie hervorrufenden Lebewesen fehlt noch gänzlich.

Da ich mich seit neuerer Zeit mit dem Studium der Buttersäuregärung und der Züchtung solcher sie erzeugenden Bakterien abgebe, und da keine einzige neuere zusammenhängende Arbeit über das Kapitel „Buttersäuregärung" existiert und trotz der großen Materialfülle eine Orientierung sehr erschwert ist, so habe ich es versucht, die verschiedenen und in der Litteratur zerstreut angegebenen Buttersäurebakterien soweit möglich unter bestimmten Gesichtspunkten zusammenzufassen und, soweit notwendig, einige kurze kritische Bemerkungen einzuflechten. Anknüpfend hieran benütze ich die Gelegenheit, auch über einen neuen Fall von Buttersäuregärung, dessen Studium Herr Dr. Weigmann und ich uns hingeben, kurz anzuführen und einige Befunde vorläufig mitzuteilen.

Die ersten Angaben rühren von Pasteur[1]) und Cohn[2]) her; beide entdeckten Mikroorganismen, wobei die alkalische Gerinnung der Milch eingetreten war. Lange und dicke Stäbchen waren es, die Buttersäuregärung und Labbildung hervorriefen. Später stellte

---

1) S. frühere Fußnote.

2) Untersuchungen über Bacterien I. (Beiträge zur Biologie der Pflanzen. Bd. II. Heft 1. 1872. p. 172.)

3) Untersuchung über die Entwickelungsgeschichte und Formentwickelung einiger Bakterien. Leipzig 1880.

Prażmowski[3]) eine Art fest und nannte sie Clostridium butyricum (Bacillus amylobacter), die in Milch und zuckerhaltigen Flüssigkeiten besonders dann gut gedeiht, wenn durch das Milchsäureferment zuvor ein Teil des Zuckers in Milchsäure verwandelt worden ist. Auch vermochte dieser Bacillus Kaseïn zu lösen; er ist exquisit anaërob. Auf eine nähere Beschreibung gehe ich nicht ein, da er später von anderen Autoren näher untersucht und sein Name nur noch als Sammelname für eine Klasse von Buttersäurebakterien gebraucht wird; auch war er nicht in Reinkulturen gezüchtet worden, da zu damaliger Zeit die Isolierungsmethoden noch nicht bekannt waren.

Im Jahre 1887 beschrieb dann Gruber[1]) 3 verschiedene Formen von Buttersäurebakterien, von denen 2 anaërobisch leben, seither nicht unterschieden worden waren und als Clostridium butyricum bezeichnet wurden. G. beschränkte sich in seiner Abhandlung auf die Mitteilung der morphologischen Charaktere der 3 Arten.

Die beiden ersten (zugleich anaëroben Formen) unterscheiden sich durch das Aussehen ihrer Kolonieen auf Nährgelatine. No. I ist eine bei durchfallendem Lichte dunkelschwarzbraune, bei größerer Entwickelung völlig undurchsichtige schwarze Kolonie mit Ovoid-, Spindel- oder Citronenform. Im vegetattiven Zustande sind die Bacillen schöne cylindrische Stäbchen mit abgerundeten Enden, 0,6—0,8 μ breit und 3—5 μ lang; in flüssigen Nährmedien trifft man häufig Kettenform; Krümmung der Stäbchen selten. Sporentragende Stäbchen haben Spindel- und Tonnenform.

No. II bildet im jugendlichen Zustande fast kugelrunde, schwach gelbliche Kolonieen, im älteren nur rundhöckerige oder mindestens am Rande noch bräunlich durchscheinende, grob granulierte. Die Stäbchen sind schmäler als bei No. I, ca. 0,5 μ breit, 2—8 μ lang und stets gekrümmt. Bei der Sporenbildung schwillt das eine Ende kopf- und knopfförmig an (Keulen-, Kolben-, Stecknadelform). Die Stäbchen beider Formen tragen im sporenbildenden Stadium Granulose in ihrem Innern, das sich durch Jod färbt. — Die Art No. III unterscheidet sich hauptsächlich physiologisch von den beiden ersten dadurch, daß sie bei Sauerstoffabschluß wohl zu wachsen vermag, aber in Sauerstoff sich besser entwickelt und nur bei Anwesenheit desselben Sporen bildet. Die Kolonieen sind kugelrund und wenig charakteristisch. Dieser Bacillus bildet niemals Granulose.

Die Arbeit behandelt leider nur die Morphologie dieser Bakterienarten, sagt aber nichts über den Fundort und über das biologische Verhalten knüpft der Autor nur die kurze Bemerkung an, daß alle 3 Arten aus Kohlehydraten Buttersäure und Butylalkohol zu bilden vermögen.

Einen wichtigen Beitrag zur Kenntnis der Clostridiumarten (Amylobacterarten) lieferte uns in neuerer Zeit M. W. Beyerinck[2]) in seiner hochinteressanten Abhandlung über die Butylalkoholgärung

---

1) Centralbl. f. Bakt. u. Paras. Bd. I. 1887. p. 367.

2) Ueber die Butylalkoholgärung und das Butylferment. (Verhandelingen der Koninklijke Akademie van Wetenschappen t. Amsterdam. 1893.)

und das Butylferment, welche ,zum genauen Studium Interessenten nur empfohlen werden kann. Ueber Clostridium entnehme ich derselben folgendes:

B. isolierte aus einer Maische 2 Clostrydiumarten. Nach seinen Untersuchungen hält er es für zweckmäßig, den Sammelnamen „Clostridium und Amylobacter“ aufzugeben und dafür diese 2 Arten, sowie noch 2 weitere hierher gehörige unter den Gattungsnamen „Granulobacter“ zusammenzufassen. Da die beiden ersten Formen in Maische gefunden worden sind, so ist anzunehmen, daß sie schon auf den Getreidekörnern vorkommen. Die 3. Art ist das Buttersäureferment des Calciumlactates. Alle diese 3 sind anaërobe Formen, d. h. sie wachsen, wenn auch noch Spuren von O vorhanden; sie bilden schnell bewegliche Stäbchen, die sich mit Jod gelb färben und stürmisch H und CO_2 bilden. Bei vollständiger Anaërobiose füllt sich ein bestimmter Körperteil vieler Stäbchen mit Granulose, welche sich mit Jod blau färbt; dabei schwellen die Stäbchen stark an und verwandeln sich in Clostridien. Wegen dieser Granulosebildung schlägt der Autor den Kollektivnamen „Granulobacter“ für die Bakteriengruppe vor. Als 4. Form gesellt sich zu ihr noch eine aërobe (temporär anaërobe) Form.

Die kurze Uebersicht der nach Beyerinck genau untersuchten Formen ist folgende:

„Die Granulobacterarten sind obligat oder temporär anaërobe Gärungsbakterien, welche bei vollständiger Anaërobiose sich teilweise oder ganz mit Granulose anfüllen und dann Clostridiumform annehmen. Bei Gegenwart von Sauerstoffspuren entstehen schnellbewegliche Stäbchen, die mit Jod gelb werden. Sporen entstehen in den Clostridien und können einige Sekunden oder Minuten auf 95—100° C in den Nährflüssigkeiten erhitzt werden, wodurch die Entfernung von verunreinigenden Bakterien möglich ist. Unter den Gärungsprodukten finden sich immer Kohlensäure und gewöhnlich auch Wasserstoff; Methan fehlt stets.“

Folgende 4 Hauptarten sind bekannt:

1) Granulobacter butylicum, häufig auf nackter Gerste vorkommend, ist das Butylferment vieler Getreidemehlvarietäten nach der Meinung des Autors vielleicht identisch mit Gruber's Bacillus Amylobacter I. Gärungsprodukte sind normaler Butylalkohol, Wasserstoff und CO_2, jedoch keine Buttersäure; lebt nur anaërobisch. Ueber das Verhalten in milchzuckerhaltigen Flüssigkeiten bezw. Milch liegen keine Angaben vor. Diese Form ist bis jetzt nur als Butylferment anzusehen.

2) Granulobacter saccharobutyricum, identisch mit Bacillus butylicus Fitz (später aufgeführt), ist das echte Buttersäureferment des Zuckers; findet sich stets in Gartenerde und auf Getreidemehl vor; ist das anaërobe Ferment der gewöhnlichen Buttersäuregärung aus Glukose und Maltose. Gärungsprodukte sind neben Buttersäure normaler Butylalkohol, CO_2 u. H. Mikroskopische Unterscheidung von Granulobacter butylicum ist schwer. Die Clostridien sind etwas schmaler, Sporen kleiner, ebenfalls das Granuloseorgan. Gelatine verflüssigt er nicht.

3) Granulobacter lactobutyricum ist das Buttersäureferment des Calciumlaktates und erzeugt daraus als anaërobe Clostridiumform Calciumbutyrat, Wasserstoff und CO_2 nebst einigen Nebenprodukten unbekannter Natur. Verliert sehr leicht die Gärkraft und wird dann zu einer Stäbchenbakterie; diese zersetzt unter Bildung von $CaCo_3$ das Calciumlaktat, ohne Buttersäure zu bilden. Diese Form ist dann aërob und verflüssigt die Gelatine schwach. Die Clostridien sind meist kurz und dick, die enthaltenen Sporen klein und rund. — Die Granulosefärbung mit Jod ist nicht blau, sondern violettblau; die aërobe Form jedoch enthält keine Granulose und färbt sich mit Jod nur gelb. Die anaërobe Form geht bei fortgesetzter Ueberimpfung, ohne bekannten Grund, ein.

4) Granulobacter Polymyxa ist eine temporär-anaërobe Gärungsbakterie aus Malzwürze, sie wächst am besten bei vollständigem Luftzutritt, gärt jedoch nur bei beschränkter Lüftung. Luftform bewegliche Stäbchen, Gärform Clostridien mit wenig Granulose und Sporen. Gärungsprodukte sind nur CO_2, Butylalkohol nur in Spuren und keine Buttersäure. Verflüssigt die Gelatine langsam, jedoch vollständig. Ist ein steter Bewohner von Getreidekörnern und deshalb in den Butylansätzen stets anzutreffen. Er bildet den Uebergang von Granulobacter zu den „Heubacillen".

Der Autor bemerkt, „daß mit diesen 4 Arten die Reihe der Granulobacterarten noch nicht erschöpft ist, er habe noch weitere gefunden, aber noch nicht eingehend studiert. Im zukünftigen natürlichen System wird Granulobacter, wie der Autor sich ausspricht, seine Stellung in der Nachbarschaft von der ziemlich umfangreichen Gruppe der sog. Heu- und Kartoffelbacillen finden. Andererseits dürfte Granulobacter zusammenhängen mit Bienstock's Darmfäulnisbakterie (Bacillus putrefaciens coli) sowie mit den übrigen Sporen erzeugenden Fäulnisbakterien der Eiweißkörper. Granulobacter dürfte den am höchsten differenzierten Typus des Bakteriensystems vergegenwärtigen."

Bei diesen interessanten Untersuchungen der Bakterien der Granulobactergruppe wurde das Verhalten derselben zu Stärkebezw. Zuckerlösungen und bei Granulobacter lactobutyricum auf Calciumlaktat in eingehendster Weise studiert. Die Buttersäuregärungsfrage ist dadurch wesentlich gefördert und in ein ganz neues Stadium getreten. Es bliebe aber noch zu eruieren, wie die Wirkung dieser Buttersäurebakterien auf den nicht minder geeigneten Nährboden, die Milch, wäre. Voraussichtlich, ja sicher werden diese Formen Fermentgerinnung hervorrufen, aber welcher Art werden wohl die Gärungsprodukte sein?

Granulobacter saccharobutyricum ist nach Beyerinck identisch mit Bacillus butylicus Fitz[1]); derselbe bewirkte in zuckerhaltigen Lösungen buttersauere Gärung, wobei die Lösung sauer wurde.

---

1) Berichte d. d. chem. Gesellschaft. Jahrg. XV. 1882. p. 867.

Ich habe absichtlich diese Arbeit neuesten Datums über die Granulobactergruppe an die von Prażmowski und Gruber angereiht, da sie mit denselben am meisten im Zusammenhange steht und im Folgenden event. darauf verwiesen werden kann.

Zurückgreifend auf das Jahr 1884, wird der von Hueppe[1]) entdeckte aërobe Bacillus butyricus zunächst an die Reihe kommen.

Dieser Bacillus wird häufig in Milch angetroffen, bringt in derselben das Kaseïn labähnlich zur Gerinnung, löst aber dieses wieder auf unter Verwandlung in Pepton und einige Spaltungsprodukte wie Leucin, Tyrosin, Ammoniak u. s. w. Er ist aërob. Auf Gelatineplatten wachsen die Kolonieen mit gelber Farbe und verflüssigen dieselbe schnell. In Bouillon erzeugt er Buttersäure. Letztere vermag er aus dem Milchzucker nur dann zu bilden, wenn dieser vorher durch andere Bakterien hydratisiert ist. Seine Länge beträgt 2,1 μ, seine Breite 0,38 μ, häufig kommen Kettenformen vor, er bildet mittelständige eirunde Sporen.

Mutmaßlich dürfte der Bacillus butyricus Hueppe mit dem Granulobacter Polymyxa verwandt sein; jedenfalls ähnelt er ihm am meisten und dürfte den Heu- und Kartoffelbacillen sehr nahe stehen; wie auch die von Loeffler[2]) häufig in ungenügend sterilisierter Milch angetroffenen Bacillen, Bac. mesentericus vulgatus Flügge, Bac. liodermes Flügge und Bac. lactis albus Loeffler, die alle Kaseïn zum Gerinnen zu bringen und auch neben anderen Fettsäuren Buttersäure in mehr oder weniger großen Mengen zu produzieren vermögen, den Heu- und Kartoffelbacillen zuzurechnen sein dürften.

(Schluß folgt.)

Ueber Nitrifikation.

Sammel-Referat.

Von

Dr. R. Burri

in

Bonn.

Die schon den Chemikern der älteren Schule bekannte Erscheinung, daß im Ackerboden fortwährend eine Oxydation des Ammoniaks unter Bildung von salpetersauren Salzen vor sich geht, wurde bis in die neuere Zeit auf einen rein chemischen Vorgang zurückgeführt (1). Im Jahre 1877 machten Schlösing und Müntz (2) und schon vorher Müller (3) darauf aufmerksam, daß die Nitrifikation im Ackerboden unter Mitwirkung eines organisierten Fermentes stattfinde, und diese Ansicht der genannten Forscher wurde bald von

1) Mitteilungen aus dem kais. Gesundheitsamt. Bd. II. 1884. p. 319.
2) Berl. klin. Wochenschrift. 1887. No. 34.

anderen Seiten bestätigt, so von Warington (4), Emich (5), Munro (6). Gegen die Richtigkeit dieser Ansicht erhobene Einwendungen, die Frank (7) auf Grund seiner Versuche machte, wurden durch diesbezügliche Arbeiten von Plath (8) und Landolt (9) hinfällig, und so war denn nach allgemeiner Erkenntnis die Frage vom rein chemischen in das biologische Stadium getreten; im Vordergrunde des Interesses stand die Isolierung des salpeterbildenden Ferments, welcher sich indessen ungeahnte Schwierigkeiten in den Weg stellen sollten.

Zwar wurden von einzelnen Forschern, wie z. B. von Hueppe (10) und Heraeus (11) mittels des Gelatineplattenverfahrens Bakterien reinkultiviert, denen das Vermögen zukommen sollte, Ammoniaksalze zu Nitrat oder wenigstens zu Nitrit zu oxydieren. Die dabei in Reaktion tretenden Substanzmengen waren aber so gering, daß sie in keinem Verhältnis zu der Umsetzung standen, wie sie sich unter natürlichen Verhältnissen abspielt, und so mußte die Frage nach einem spezifischen Salpeterfermente vorläufig als ungelöst betrachtet bleiben.

Eingehende Studien in dieser Angelegenheit wurden sodann gemacht von G. und P. Frankland, von R. Warington und S. Winogradsky. Besonders die Arbeiten des letztgenannten Forschers sind als grundlegend zu bezeichnen und soll in Folgendem der Inhalt der 5 in den Annalen des Pasteur'schen Instituts gemachten Mitteilungen in Kürze wiedergegeben werden [1]. Gleichzeitig werden die das Gebiet betreffenden Arbeiten anderer Autoren an den zutreffenden Stellen Berücksichtigung finden.

1. Mitteilung. Winogradsky (12) schlug, als er sich von der Erfolglosigkeit bei Anwendung des Gelatine-Plattenverfahrens überzeugt hatte, einen anderen Weg ein. Zunächst stellte er fest, unter welchen Versuchsbedingungen sich am schnellsten Nitrifikation erzielen ließ und fand dabei, daß sich als Nährmedium für diese Zwecke am besten Leitungswasser (filtriertes Zürichseewasser) eignete, in welchem per Liter 1 g Ammonsulfat und 1 g Kaliumphosphat aufgelöst waren. Von dieser Flüssigkeit kamen je 100 ccm in Glaskolben mit weitem, flachem Boden, und in jedes der Gefäße wurde außerdem 0,5 bis 1,0 g basisches Magnesiumkarbonat gegeben. Wenn mit Spuren von Züricher Erdproben auf genannte Weise beschickte Gefäße geimpft wurden, so sah W. schon nach 5 Tagen deutliche Reaktion bei Zusatz von Diphenylamin und H_2SO_4; nach 14 Tagen war sämtliches Ammoniaksalz verschwunden. Solche Kulturen führte nun W. durch successive Ueberimpfungen auf neues, steriles Nährsubstrat 3 Monate lang fort. Als er dann die jüngsten Kulturen nach dem Plattenverfahren behandelte, kamen 5 verschiedene Organismen, darunter ein Sproßpilz, zum Vorschein, von denen keiner die Fähigkeit besaß, Ammoniak zu oxydieren. Um diese störenden Begleiter eventuell ganz oder zum Teil auszuschließen, wurden nun die einzelnen Komponenten des Nährsubstrates einer besonderen Behandlung unterworfen, welche die Entfernung jeglicher organischen Sub-

1) Bezüglich der übrigen Arbeiten des gleichen Verf.'s sind für die folgenden Nummern Einzelreferate vorgesehen.

stanz bezweckte. Der Erfolg war ein beinahe vollständiger, denn nunmehr fanden sich bei mikroskopischer Untersuchung von oxydierenden Kulturen nur noch 2 Organismen, von denen der eine jener Sproßpilz war und auf Gelatine langsam zu deutlich sichtbaren Kolonieen heranwuchs, während der andere, welcher rundlich-elliptische bis spindelförmige Zellen zeigte, auf Gelatine unter keinen Umständen zum Gedeihen zu bringen war. Diese letztere Art, die sich übrigens in sämtlichen gärenden und vergorenen Kulturen, meist in zoogloeaartigen Verbänden fand, konnte nur der lange gesuchte Nitratbildner sein, da der Sproßpilz, wie diesbezügliche Versuche gezeigt hatten, nicht nitrifizierte. Die Trennung der beiden Arten geschah auf folgende sinnreiche Weise. Kleine Partikel des Magnesiumkarbonats, welche fast immer von Zoogloeamassen umgeben sind, wurden auf Nährgelatine gebracht und dort während einer Reihe von Tagen beobachtet. Wuchs an der Stelle, wo das Karbonatpartikel lagerte, eine Kolonie heran, so hatten an demselben nicht nur Zoogloeastücke, sondern auch Zellen des Sproßpilzes gehaftet. Blieb aber die betreffende Stelle während 10 Tagen steril, so wurde das Karbonatpartikel wieder in passende sterile Nahrlösung zurücktransportiert, bezw. als reines Aussaatmaterial verwendet. Die Oxydation ging wie früher von statten, diesmal aber fanden sich in der Flüssigkeit nur die rundlichen bis spindelförmigen Zellen, die Kulturen waren demnach Reinkulturen eines nitrifizierenden Organismus. Derselbe wächst also nicht auf Nährgelatine und konnte daher bis dahin noch gar nicht gefunden worden sein.

P. and G. Frankland (13) können aus Gelatinekulturen ebenfalls keinen nitrifizierenden Organismus isolieren. Mit Hilfe der Verdünnungsmethode hingegen gelangen die Verff. zu einem ca. 8 μ langen und fast ebenso dicken Stäbchen, welches sie als den gesuchten Salpeterbildner ansprechen. Dasselbe läßt die Nährflüssigkeit vollkommen klar und gedeiht gut bei Abwesenheit jeder organischen Substanz. In Reinkultur soll in 5 Monaten ungefähr die Hälfte des gebotenen Ammoniakstickstoffes zu salpetriger Saure oxydiert worden sein (100000 Teile Flüssigkeit enthielten 11,12 Teile Ammoniakstickstoff). Salpetersäure wurde nicht gebildet. Der Organismus soll sehr langsam in Bouillon wachsen und nachher auch die Fähigkeit besitzen, auf Gelatine Kolonieen zu bilden.

Auch Warington (14) kam mit dem Gelatineplattenverfahren zu keinem positiven Ergebnisse. Erst als er mit Lösungen arbeitete, die neben den übrigen Nährsalzen noch Gips enthielten, gelangte er nach und nach durch Weiterzüchtung zu solchen Kulturen, welche keine Formen mehr enthielten, die auf Gelatine wuchsen. W. nimmt solche Kulturen als wahrscheinlich rein an. Im Gegensatz zu Frankland beobachtete er in Bouillon keine wesentliche Entwickelung, wohl aber sollen sich in Lösungen von Harnstoff, Asparagin, in Milch und Urin mäßige Mengen von Nitrit gebildet haben. Die untersuchten Organismen sollen kugelige, selten 1 μ dicke Zellen bilden; ausnahmsweise soll die Länge 1 μ überschreiten.

2. Mitteilung (15). Die Zellen des von Winogradsky als „Nitromonas" bezeichneten Organismus haben einen Querdurchmesser

von 1 μ. Sie bedecken in den Kulturen meist als Zoogloea die Karbonatschicht. Unter gewissen Umständen wird das Zoogloeastadium durch ein Schwärmstadium abgelöst. Der Kontakt mit Karbonaten scheint für das Zustandekommen der Oxydation notwendig zu sein. Das Karbonat geht dabei in Lösung. An Hand von Analysenbelegen zeigt Verf., daß die durch seine „Nitromonas" ausgeführte Oxydation quantitativ mindestens so bedeutend ist, als die von Schlösing bei Versuchen mit Erde beobachtete. — Merkwürdig ist, daß der Organismus bei Abwesenheit von organischer Substanz sich normal entwickelt. Um diese wichtige Thatsache nochmals endgiltig festzustellen, wurden Gefäße und Substanzen aufs peinlichste chemisch gereinigt; das Resultat war dasselbe wie früher und führt Verf. zu dem Schlusse: Die Nitromonas vermag normal zu wachsen und ihre Wirkung auszuüben in einem Medium, welches keine Spur von organischen Kohlenstoffverbindungen enthält. — Bemerkenswert ist dabei, daß das Licht keinen Einfluß auf den Verlauf der bezüglichen chemischen Umsetzungen zu haben scheint. Hüppe verglich den Ernährungsvorgang bei Nitromonas mit einer Chlorophyllwirkung ohne Chlorophyll und glaubt, daß der aus der Kohlensäure frei gewordene O direkt zur Oxydation des Ammoniaks verwendet würde. Dieser Ansicht hält aber W. entgegen, daß dann der Organismus auch bei Abschluß der Luft gedeihen müsse, was den Erfahrungen vollständig widerspreche. W. nimmt vielmehr an, daß es zwischen der Kohlensäure und dem Ammoniak zu einer Amidbildung komme und daß dieses Amid von den Bakterien zum weiteren Aufbau der plasmatischen Substanz verwendet würde. Der Schlußsatz dieser Mitteilung lautet: Es ist auf unserem Planeten auch bei Ausschluß von Sonnenlicht eine vollständige Synthese organischer Substanz (durch die Lebensthätigkeit von Mikroorganismen) möglich.

Die Bildung von organischer Substanz durch nitrifizierende Organismen stellt sich Loew (16) wie folgt vor. Das Ammoniak wird zum Teil unvollständig oxydiert nach der Gleichung $2NH_3 + 2O_2 = 2HNO_2 + 4H$.

Der frei werdende H wird aber momentan im Plasma zur Reduktion der Kohlensäure verwendet nach der Formel:

$$CO_2 + 4H = HCHO + H_2O.$$

Der entstehende Formaldehyd wird nicht nur zu einem Kohlehydrat kondensiert, sondern kann auch direkt zur Eiweißsynthese verbraucht werden.

Bezüglich der Aufnahme von Kohlensäure teilt Müntz (17) mit, daß sich auf den vollständig kahlen Felsen der höchsten Bergspitzen regelmäßig nitrifizierende Organismen nachweisen lassen, und daß dieselben vermöge ihrer Eigenschaft, aus Kohlensäure organische Substanz bilden zu können, an solchen Orten die erste Grundlage zur Humusbildung liefern.

Godlewsky (18) prüfte noch einmal die Richtigkeit der Beobachtung Winogradsky's, daß sich die nitrifizierenden Organismen ohne jede Kohlenstoffverbindung organischer Natur entwickeln

können. Da vielleicht Luftstäubchen als Kohlenstoffquelle dienen konnten, so leitete er die Luft vorher durch H_2SO_4 und Kaliumpermanganat. Die Nitrifikation ging normal vor sich, dann aber nicht, wenn die Luft durch Kalihydrat von Kohlensäure befreit war. G. zieht daraus den Schluß, daß die von den Salpeterbildnern verwendete Kohlensäure nicht, wie Winogradsky annimmt, aus den Karbonaten sondern aus der umgebenden Luft entnommen ist.

3. Mitteilung (19). Winogradsky beobachtete bei seinen Versuchen über Nitrifikation neben Salpetersäure ebenso wie Schlösing und Müntz stets auch das Auftreten von salpetriger Säure, ohne diesem Umstande anfänglich besondere Beachtung zu schenken. Eine Reihe nach dieser Richtung angestellter Versuche führte nun zu dem überraschenden Ergebnisse, daß die salpetrige Säure die Menge der in flüssigen Kulturen gebildeten Salpetersäure meist um ein Vielfaches übertrifft, währenddem im Ackerboden normal nur Salpetersäure gebildet wird. Um eine größere Menge der Stickstoffoxydationsprodukte für quantitative Bestimmungen zu erhalten, wurden die Kulturen mehrere Monate lang so fortgeführt, daß das Ammoniaksalz nach und nach in kleinen Quantitäten nach dem Maße des Verbrauchs zugesetzt wurde; die einzelnen Kulturen wurden, um eine zu starke Anreicherung von Nitrit und Nitrat zu verhindern, von Zeit zu Zeit durch einen kleinen Asbeststopfen filtriert und dieser als Aussaatmaterial für neue Nährlösung benützt. In den Filtraten wurde einerseits Nitrit plus Nitrat, andererseits Nitrit bestimmt und die Menge des Nitrats aus der Differenz bestimmt. Ein anderer Teil der Filtrate wurde zur Bestimmung des gelösten assimilierten Kohlenstoffs benutzt. Die Menge des ungelösten assimilierten Kohlenstoffs ergab sich durch entsprechende Behandlung des Filterrückstandes der letzten Kultur. Assimilierter Kohlenstoff und oxydierter Stickstoff zeigten bei den einzelnen Versuchen ein ziemlich konstantes Verhältnis, welches zwischen $^1/_{33}$ und $^1/_{37}$ schwankte. Im Durchschnitte bedurfte es der Oxydation von 35,4 mg Stickstoff, um 1 mg Kohlenstoff in organische Bindung überzuführen. Nach W. kann diese Proportionalität zwischen Kohlenstoffassimilation einerseits und Stickstoffoxydation andererseits nicht überraschen, wenn man bedenkt, daß letztere in diesem Falle die einzige Kraftquelle bildet. (Schluß folgt.)

Ueber die Beziehungen der Bakteriologie zur Gerberei.

Von

Dr. F. H. Haenlein

in

Freiberg.

Nachdem die bakteriologische Wissenschaft gezeigt hatte, daß sehr viele chemische Umwandlungs- und Zersetzungsvorgänge in solchen Gewerben, die sich mit der Verarbeitung organischer Roh-

stoffe beschäftigen, als Fermentationsprozesse aufzufassen sind, lag es sehr nahe, auch die in der Gerberei sich abspielenden analogen Vorgänge auf die Wirkung von Fermenten zurückzuführen.

Es sind teils Fäulnisprozesse, teils Gärungsprozesse im engeren Sinne, welche hier in Frage kommen. In dieser Allgemeinheit war die Erkenntnis von vornherein eine richtige, und selbst die praktischen Gerber pflegten schon lange gewisse Veränderungen der Gerbebrühen als Gärung zu bezeichnen. Ueber alles aber, was über diese allgemeine Erkenntnis hinausgeht, über die chemischen Verbindungen, welche der Umwandlung und Zersetzung unterworfen sind, über die chemische Natur der Spaltungsprodukte, über den Verlauf der betreffenden Vorgänge und ihre Abhängigkeit von äußeren Bedingungen und insbesondere über die Natur der dabei wirksamen Fermente wissen wir noch blutwenig. In der wissenschaftlich technischen Litteratur sind nur vereinzelte Angaben vorhanden, welche als sicher gelten können, und auch in den speziellen gerberischen Fachzeitschriften findet man die hier einschlägigen Fragen nur selten behandelt, und dazu kommt noch, daß sich die Angaben bakteriologischen Inhaltes, die überhaupt in den gerberischen Fachjournalen sowie in den Lehrbüchern der Gerberei vorhanden sind, häufig nicht über das Niveau von mehr oder minder wahrscheinlichen Behauptungen erheben.

Bei einer solchen Sachlage kann es sich hier auch nicht um eine lange Aufzählung der Ergebnisse bakteriologischer Forschung handeln, als vielmehr um eine kurze Skizzierung der Aufgaben, welche sich der Bakteriologie im Gebiete der Gerberei darbieten.

Die rohe Haut ist nach ihrer Trennung vom Körper des Tieres fortwährend der Gefahr der Fäulnis ausgesetzt, und der Umstand, daß die Fäulnis auch wirklich eintritt, hat ja ursprünglich die Entstehung des Gerbereigewerbes veranlaßt. Die Ueberführung der Haut in Leder hat neben anderen Zwecken immer auch den, die Haut zum Faulen unfähig zu machen. Das Studium der Fäulnisvorgänge in ihren spezifischen Erscheinungsformen bei der tierischen Haut hat daher vom gerberischen Standpunkte aus ein ganz allgemeines Interesse. Große Mengen von Häuten gelangen aber nicht direkt vom Schlachtorte in die Gerbereien, sondern kommen erst in die Hände von Händlern und lagern mehr oder minder lange Zeit in den Magazinen; sie sind ein Artikel des Welthandels geworden. Um die Zeiten des Lagerns und des überseeischen Transportes ohne Schaden zu überstehen, ist daher eine interimistische Konservierung erforderlich.

Die Prüfung der gebräuchlichen Konservierungsmethoden auf ihren praktischen Wert oder Unwert wird durch die Anwendung bakteriologischer Untersuchungsmethoden ohne Zweifel sehr gefördert. Als antiseptische Mittel können hierbei natürlich nur solche in Betracht kommen, welche auch bei langer Einwirkung nicht zugleich auch die Haut selbst so verändern, daß sie sich nicht mehr gerben läßt. Die Untersuchung der Antiseptica in ihren Wirkungen auf die rohe Haut und ihrem Verhalten gegen die überall verbreiteten Fäulnisbakterien ist daher eine weitere hierhergehörige Aufgabe. Anregungen mancherlei Art nach dieser Richtung hin, aber ohne nähere

experimentelle Begründung, wurden bereits von Eitner in einer Reihe von Artikeln in den Jahren 1888 und 1889 gegeben[1]). Später wurde vom Verf. speziell das Kochsalz in dieser Beziehung geprüft[2]).

Bei den vorbereitenden Operationen, welchen die tierische Haut vor dem eigentlichen Gerbeprozesse unterworfen wird, also bei den Arbeiten des Einweichens, Reinigens und besonders aber des Enthaarens zeigen sich mancherlei Erscheinungen, welche auf die Gegenwart und Thätigkeit von Bakterien schließen lassen. Namentlich wird der Enthaarungsprozeß, wenn er durch das sog. Schwitzen (d. h. durch die Aufbewahrung der Häute in einem mit Wasserdämpfen gesättigten Raume bei mäßiger Temperatur) erfolgt, schon längst als eine beginnende Fäulnis betrachtet, und die Häute sind in diesem Stadium auch stets mit zahlreichen Bakterien behaftet. Ob aber die Bakterien die unmittelbare Ursache der Haarlockerung und der gleichzeitig stattfindenden Trennung der Epidermis von der Lederhaut sind, oder ob sie nur indirekt wirken, indem sie durch Zersetzung irgendwelcher Eiweißstoffe Ammoniak und mithin eine alkalische Reaktion erzeugen; ob wir es hier mit spezifischen, gut charakterisierten Arten und mit welchen zu thun haben; ob und welche der auftretenden Bakterien mit dem Enthaarungsvorgang überhaupt nichts zu thun haben, das sind Fragen, welche noch einer streng wissenschaftlichen Beantwortung harren.

Ein anderes Verfahren, die Haare und Epidermis von der Lederhaut loszulösen, besteht bekanntlich in der Behandlung der Häute mit Kalkmilch, dem sog. Aeschern. Es ist bekannt, daß durch den im „Aescher" reichlich vorhandenen Aetzkalk viele Bakterienarten getötet werden; andererseits besteht aber auch die Thatsache, daß in einem wiederholt gebrauchten Aescher sich die Bakterien allmählich anhäufen. Hieraus ergiebt sich sofort eine größere Anzahl von Fragen bakteriologischen Inhaltes: Welche der ursprünglich auf der Haut vorhandenen Bakterien werden durch den Aetzkalk getötet und welche nicht? Wie verhält sich die Kalkmilch gegen die Bakterien des Wassers und der Luft? Spielen die Bakterien beim Enthaaren durch Aeschern überhaupt eine Rolle oder nicht und eventuell welche? u. s. w.

Eine weitere Operation im Gerbereibetriebe, welche ganz hervorragend bakteriologische Seiten darbietet, ist das sog. „Beizen" — eine Operation, welcher geäscherte Häute nach dem Enthaaren unterzogen werden, und durch welche der Gerber manchmal die Entfernung des in den Häuten zurückgebliebenen Kalkes anstrebt, deren Zweck sehr oft aber ein ziemlich mysteriöser ist. Die Methoden des Beizens werden zwar verschieden ausgeübt, sie kommen aber darin überein, daß die noch mit Kalk imprägnierten Häute mit organischen Substanzen (Exkrementen von Tauben, Hühnern, Hunden u. s. w. oder Kleie) behandelt werden, die durch Fermentationsprozesse organische

---

1) Eitner, Antiseptik in der Gerberei. (Der Gerber. Jahrg. 1888 u. 1889.)

2) Haenlein, Beitrag zur Kenntnis der Wirkung des Kochsalzes auf die Fäulnisbakterien der Haut. (Dingler's polytechn. Journal. Bd. CCLXXXVIII. 1893.)

Säuren und andere Stoffe erzeugen sollen, die mit dem Kalke lösliche Verbindungen eingehen. Diese Fermentationsprozesse bieten an sich schon noch manche unbekannte Seite dar; es erhebt sich aber sofort die weitere allgemeine Frage, ob und eventuell welche Abänderungen diese Vorgänge erleiden unter den veränderten Umständen, wie sie in der Gerberei bei der Operation des Beizens verlaufen.

Es ist weiterhin der Umstand, daß die tierische Haut nicht selten der Sitz von pathogenen Bakterien ist, auch für die Gerberei von hoher Bedeutung. Die Arbeiter in den Gerbereien wissen sehr wohl, daß es gefährlich ist, die Reinigungsarbeiten an den rohen Häuten vorzunehmen, wenn sie offene Wunden an den Händen haben.

Hieran schließt sich ferner die Frage nach der Behandlung der Abfallstoffe und Abwässer aus den Gerbereien.

Die experimentelle Beantwortung der bisher angedeuteten Fragen bakteriologischer Natur wird sehr erschwert durch den Umstand, daß es an einem allen Anforderungen genügenden Sterilisationsmittel für die tierische Haut noch fehlt — an einem Mittel, das zwar selbst die Sporen mit Sicherheit tötet, die chemische und physikalische Beschaffenheit der Haut aber unverändert läßt. Mit Rücksicht auf den letzteren Punkt ist die Anwendung von Hitze, sowohl trockener als feuchter, gänzlich ausgeschlossen, ebenso die Verwendung von Salzen der schweren Metalle und von Stoffen, welche mit den eiweißartigen Substanzen der Haut unlösliche Verbindungen eingehen; unbrauchbar sind ferner solche Stoffe, welche sich nur schwer und unvollständig wieder aus der Haut entfernen lassen.

Sehr reichliche Gelegenheit zu bakteriologischen Forschungen bieten ferner die vegetabilischen Gerbmaterialien dar. Es ist zunächst zu untersuchen, ob dieselben nur die gewöhnlichen, überall verbreiteten Bakterien der Luft beherbergen oder ob manche derselben auch der Sitz von bestimmten spezifischen Arten sind. Letztere Möglichkeit muß wohl zugegeben werden, und es ist dann ferner auch möglich, daß die nähere Untersuchung eine ziemliche Mannichfaltigkeit der Arten ergiebt, entsprechend der sehr verschiedenen Abstammung der Gerbmaterialien zunächst in Rücksicht auf die den Sitz des Gerbstoffes bildenden Pflanzenorgane, als Rinden, Holz, Wurzeln, Blätter, Früchte, Gallen, eingetrocknete Pflanzensäfte u. s. w. Ebenso verschieden ist die Herkunft der Gerbmaterialien nach ihrem geographischen Ursprunge, denn fast alle Länder der gemäßigten und heißen Erdstriche bringen ihre besonderen gerbstoffreichen Produkte hervor und nehmen mehr oder weniger Anteil an der Versorgung des Weltmarktes mit Gerbmaterialien. Eine nähere bakteriologische Prüfung der letzteren dürfte sicher mancherlei interessante Aufschlüsse ergeben.

Mit Rücksicht auf die Gerberei ist natürlich dabei besonders darauf zu achten, ob gewisse Arten regelmäßig auf einem und demselben Gerbmaterial vorkommen und — wenn ja — ob diese Bakterienarten in Beziehung stehen zu dem Verhalten der betreffenden Gerbmaterialien in den Brühen. Ein erster Schritt nach dieser Richtung wurde vom Verf. gethan mit der bakteriologischen Untersuchung der

Fichtenrinde[1]), auf welcher sich regelmäßig ein sehr kleiner Bacillus vorfindet, der Bacillus corticalis. Es gelang auf experimentellem Wege der Nachweis, daß diese Bakterienart das Ferment bildet, welches die gärungsfähigen zuckerartigen Bestandteile der Rinde bei Gegenwart von Wasser zerlegt in eine ihrer chemischen Natur nach noch näher zu bestimmende Säure, welche im Wasser gelöst bleibt, und in ein Gasgemenge von viel Wasserstoff und wenig Kohlensäureanhydrid. Hiermit war das für die praktische Gerberei wichtige Resultat gewonnen, in dem Bacillus corticalis, wenn auch nicht die einzige, aber wenigstens eine sehr wesentliche Ursache für das allmähliche Sauerwerden der Gerbebrühen zu erkennen. Betreffs der Einzelheiten muß auf das Original verwiesen werden.

Die wässerigen Auszüge anderer Gerbmaterialien als Fichtenrinde (die Gerbebrühen) zeigen gleichfalls im Laufe der Zeit chemische Veränderungen mancherlei Art, die sich ihrem Hauptcharakter nach als Gärungserscheinungen dokumenieren. Das Auftreten verschiedener organischer Säuren, welche ursprünglich nicht vorhanden waren, ist die gewöhnlichste und bemerkenswerteste Erscheinung dabei. Fragen mancherlei Art bieten sich hier bei jedem einzelnen Gerbmaterial der bakteriologischen Forschung dar, insbesondere die Frage nach der spezifischen Natur der gärungsfähigen Stoffe, der Zwischenprodukte und der Endprodukte der Gärung, die Frage nach der spezifischen Natur und der Herkunft des gärungserregenden Fermentes, die Frage nach den äußeren Bedingungen der Gärung, insbesondere die Frage nach dem Einflusse, welchen die Gegenwart des Gerbstoffes ausübt u. s. w.

Gewisse Gerbmaterialien des Handels zeigen andererseits auffälligerweise nur spurenhafte oder gar keine Gärungserscheinungen. Der Grund davon liegt, wie die chemische Analyse in manchen Fällen nachgewiesen hat, in einem Mangel an gärungsfähigen Stoffen (z. B. bei Holzgerbstoffen); er ist aber in anderen Fällen sicher in dem Fehlen eines wirksamen Fermentes zu suchen, und dieser Mangel kann begründet sein in der ursprünglichen Natur des Gerbmateriales oder in der Art der Vorbehandlung (z. B. Extraktion bei hoher Temperatur).

Eine fernere wichtige Frage ist die, in welchem Grade während der Gärung der Gerbebrühen eine Vermehrung der Fermente stattfindet und wie weit die sauer gewordenen Brühen und die ausgelaugten Lohen dann selber zu Trägern der wirksamen Fermente geworden sind.

Alle mit der Gärung der Gerbebrühen zusammenhängenden Umstände haben nicht allein ein wissenschaftliches, sondern zugleich ein großes praktisches Interesse, und zwar deshalb, weil die Qualität des erzeugten Leders nicht ausschließlich von dem Gerbstoffe im engeren Sinne abhängt, sondern in hohem Grade auch von der Gegenwart anderer in den Brühen teils von vornherein vorhandener, teils während des Gerbeprozesses sich bildender Stoffe, unter denen die Säuren in erster Linie zu nennen sind.

---

1) F. H. Haenlein, Ueber die Ursache der saueren Gärung in Gerbbrühen. (Dingler's polytechn. Journal. Bd. CCXCI. 1894. Heft 8 u. 9.)

Es ist weiterhin auch die Frage aufgeworfen worden, ob und eventuell welchen Einfluß die bakteriologische Beschaffenheit des verwendeten Wassers auf den Gerbeprozeß ausübt, eine Frage, deren Beantwortung bei dem weit überwiegenden Einflusse anderer Agentien zur Zeit wenigstens keinen erheblichen Wert haben kann. Die bakteriologische Untersuchung von Gerbereiwässern hat daher gegenwärtig nur den Sinn, einen Anhaltspunkt über die Beschaffenheit und Güte des Wassers überhaupt zu liefern.

Es würde den hier zur Verfügung stehenden Raum überschreiten, auf die speziellen Fabrikationsmethoden einzelner Lederarten einzugehen, wobei sich noch mancherlei interessante Fragen bakteriologischer Art ergeben würden.

Nur das sei zum Schlusse dieser Skizze noch erwähnt, daß auch das fertige Leder häufig Gelegenheit zu bakteriologischen Studien bietet. Ein wenn auch geringer Gehalt an geeigneten Nährstoffen befähigt selbst das Leder noch, Mikroorganismen zu beherbergen, welche unter passenden äußeren Bedingungen als Schimmelüberzüge und Ausschläge anderer Art auf der Oberfläche erscheinen.

Freiberg i. S., 13. Dezember 1894.

Referate.

Hansen, Emil Christian, Recherches sur les bactéries acétifiantes. (Compte-rendu des travaux du laboratoire de Carlsberg. T. III. livr. 3. p. 182—216)[1].

Von den Arbeiten, in denen gezeigt wird, daß eine bestimmte Gärung nicht durch eine einzige, sondern durch verschiedene Arten von Mikroorganismen hervorgerufen werden kann, ist eine der ersterschienenen die im Jahre 1879 in den Berichten des Carlsberg-Laboratoriums zu Kopenhagen veröffentlichte Mitteilung von E. Chr. Hansen über Essigsäurebakterien gewesen. Entgegen der bis dahin allgemein gehegten Meinung, daß die Essiggärung der Lebensthätigkeit einer einzigen Art von Spaltpilzen, nämlich dem zuerst von Kützing im Jahre 1837 beschriebenen und von ihm als Ulvina aceti bezeichneten und den Algen zugezählten, von Thom-

---

1) Für jene Leser, welche diese Arbeit eingehender, als dies durch ein Referat möglich ist, zu studieren wünschen, die jedoch die „Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet" sich nicht verschaffen können, wird die Bemerkung von Nutzen sein, daß eine (vom Ref. besorgte) autorisierte deutsche Uebersetzung des dänischen Originals in der in Wien erscheinenden „Essig-Industrie", Jahrg. 1894. No. 11 u. 12 und Jahrg. 1895. No. 1 u. 2 zu finden ist.

Von anderen Seiten herrührende Uebersetzungen des dem Originale angehängten, französisch abgefaßten Résumé's brachte sowohl die in München verlegte „Zeitschrift f. d. gesamte Brauwesen" in No. 39 u. 42—47 des vorigen (1894) Jahrg., wie auch die in Berlin herausgegebene „Wochenschrift für Brauerei" in No. 41 desselben Jahrganges. Jede dieser drei Uebersetzungen bringt auch die 13 Holzschnitte, welche den Text der Abhandlung verdeutlichen. D. Ref.

son im Jahre 1852 als Mycoderma aceti neu benannten Mikroben zu danken sei, zeigte Hansen, daß unter dem, was Pasteur und seine eben genannten zwei Vorgänger als Essigpilz beschrieben hatten, wenigstens zwei, botanisch voneinander verschiedene Arten von Bakterien verborgen seien: das eine derselben nannte er Mycoderma aceti, das andere M. Pasteurianum, welche Bezeichnungen er späterhin, einem Vorschlage von Prof. Zopf entsprechend, in Bacterium aceti und B. Pasteurianum abänderte. Die von dem ersteren an der Oberfläche der Nährlösung gebildeten Häute wurden durch Jodlösung gelb, die des letzteren hingegen blau gefärbt. Dieses unterscheidende Verhalten war auch der Hauptgrund für den Forscher gewesen, die Gegenwart von zweierlei Arten von Bakterien anzunehmen, von denen jede in alkoholischen Nährlösungen lebhafte Säuerung hervorrief, also jede ein Essigsäurebakterium war. — Seit Kützing's grundlegender Arbeit war diese Mitteilung die erste, welche die Essigsäuregärung von der botanisch-morphologischen Seite betrachtete. Sie erhält eine Fortsetzung durch die eingangs angeführte, nun zu besprechende Abhandlung, die ihre Vorgängerin nicht bloß an Umfang sondern auch an Fülle übertrifft: denn einerseits ist der Kreis der in Betracht gezogenen Arten erweitert worden, andererseits beleuchtet sie aber ganz besonders jene Frage, welche seit Naegeli schon so viele Mykologen beschäftigt hat, nämlich diejenige betreffend die Pleomorphie der Bakterien.

Außer den früher genannten zwei Arten hat Hansen noch eine dritte, ebenfalls von ihm aufgefundene Essigsäurebakterie näherem Studium unterworfen, nämlich das Bacterium Kützingianum.

1) Entwickelung und Bau der Häute.

Wenn man steriles Doppelbier — d. i. ein obergäriges, extraktreiches, alkoholarmes Bier — mit je einer der drei Arten beimpft und dann bei 34° stehen läßt, so bedeckt sich dasselbe binnen 24 Stunden mit einem Häutchen, dessen makroskopisches Aussehen gute Unterscheidungsmerkmale abgiebt. Das von B. aceti gebildete ist schleimig, glatt, feuchtglänzend und geneigt, Aederung anzunehmen, deren Zeichnung an die des Marmors erinnert. — Dasjenige von B. Past. zeigt trockene Oberfläche und bald beginnende Fältelung und Runzelung. Es erhebt sich, zum Unterschiede gegen die vorhergehende Art, etwas über den Flüssigkeitsspiegel empor. — Letztere Eigenschaft ist bei B. Kütz. noch stärker ausgeprägt. Die von diesem Mikroben gebildete Haut wächst über die Oberfläche der Nährflüssigkeit hinaus und klettert an den Gefäßwänden empor. Das übrige Verhalten der Haut kommt demjenigen der zweiten Art nahe.

In jedem Falle bleibt das Bier blank, nicht nur während, sondern auch nach erfolgter Bildung der Decke, vorausgesetzt, daß die bei 34° C herangezüchteten Kulturen bei dieser Temperatur auch späterhin belassen werden. Bringt man jedoch die Kölbchen in Zimmerwärme, so trübt sich die mit der Haut von B. Kütz. bedeckte Flüssigkeit, während die mit den beiden anderen Arten beimpften Proben auch in diesem Falle klar und blank sich erhalten. Auf dem

Grunde der bezeichneten getrübten Nährlösung sammelt sich in der Folge ein Absatz an; damit Schritt hält die Aufhellung der Flüssigkeit, die dann endlich wieder klar wird und es auch späterhin bleibt.

Die untere Grenze der Temperatur, bei der die Hautbildung noch eintritt, liegt, bei Verwendung von Doppelbier, für

B. aceti bei 4—5° C, die obere bei ca. 42°,
B. Past. „ 5—6° C, das Optimum bei ca. 34°.
B. Kütz. „ 6—7° C.

Nicht nur auf dem bisher genannten Nährboden, sondern auch auf Lagerbier, auf Würze und auf verdünntem Weine entwickeln sich kräftige Aussaaten weiter. Als am günstigsten für die Züchtung erwies sich Doppelbier, als am tauglichsten für die Aufbewahrung der Arten zeigte sich jedoch Lagerbier. In diesem letzteren Nährboden hielten sich dieselben am längsten lebendig, und zwar B. aceti über $4^1/_2$ Jahre, B. Past. über $6^2/_3$ Jahre, B. Kütz. über $4^5/_6$ Jahre.

Die bisher gewonnenen Unterscheidungsmerkmale erfahren eine Vermehrung durch die Ergebnisse der mikroskopischen Untersuchung der Häute. Sind dieselben auf einem der bisher genannten Nährböden bei 25—34° C herangezüchtet worden und sind sie noch jung, so zeigen die meisten der Zellindividuen, aus denen die Haut von B. aceti zusammengesetzt ist, die Gestalt von Kurzstäbchen, die durch eine mittellagige Einschnürung dem Umriß einer Sanduhr ähneln. Langstäbchen oder Fadenformen sind selten. Die Kurzstäbchen sind gewöhnlich zu Ketten vereint, die ganz beträchtliche Längen erreichen können. — B. Past. unterscheidet sich in dieser Hinsicht von der vorgenannten Art dadurch, daß hier die Verbindung zu Ketten die häufigste Art der Anordnung der Individuen ist. — Hingegen kommt sie bei B. Kütz. nur sehr selten vor. Dessen Kurzstäbchen sind meist außer Verband; höchstens paarig verbundene Zellindividuen findet man ab und zu.

2) Die Natur des Schleimes der Häute.

Die Häute sind als Zooglöen aufzufassen. Der Kitt, durch den die einzelnen Zellen zusammengehalten werden, ist eine Schleimmasse, die bei gewöhnlicher mikroskopischer Betrachtung unsichtbar bleibt, die aber durch geeignetes Färben, z. B. nach Loeffler's Methode, dem Auge erkennbar gemacht werden kann. Der Verf. betrachtet diese, die einzelnen Zellindividuen umgebende und untereinander verbindende Schleimhülle als eine unmittelbare Fortsetzung der Zellhaut. Dieser Schleim ist es, welcher mit Jodlösung die eingangs erwähnte, der Artenunterscheidung dienliche Färbung annimmt, also bei B. Past. und B. Kütz. sich lebhaft bläut, hingegen bei B. aceti nicht verändert wird. Die Bakterienzellen selbst färben sich bei allen drei Arten stets gelb. Als taugliche Jodlösung ist eine alkoholische oder eine solche von Jod in wässerigem Jodkalium zu bezeichnen. Hingegen bewirkt Chlorzink-Jodlösung nicht Färbung, sondern Auflösung des Schleimes. Jod und Schwefelsäure rufen eine merkbare Veränderung nicht hervor. Die chemische Zusammensetzung des Schleimes ist derzeit noch unbekannt. Endlich ist zu betonen, daß nur an jungen, bei günstiger Temperatur und auf günstigem Nähr-

boden herangezüchteten Häuten die Blaufärbung hervorgerufen werden kann.

3) Wuchsformen auf festen Nährböden.

In den auf gewöhnliche Art hergestellten Plattenkulturen geht jede einzelne Kolonie hervor aus einer einzigen Zelle oder aus einem kleinen, nur wenige Einzelwesen umfassenden Zellhäufchen. Aus diesem Grunde sind in den meisten Fällen die Kolonieen ein Bild nicht des Wachstums der Art (Species), sondern des Einzelwesens, und zeigen daher oft Abweichungen. Die aus einer einzigen Zelle hervorgegangenen Kolonieen sind es, bei welchen individuelle Verschiedenheiten der Mutterzellen am meisten sich geltend machen müssen, während mit der Zahl der in der Aussaat vorhandenen Zellen die Zuversicht wächst, daß die Kolonieen nur jene Eigenschaften zum Ausdruck bringen werden, die allen Zellen der betreffenden Species gemeinsam sind.

Von diesen Erwägungen ausgehend, hat der Verf. seine nun zu besprechenden Kulturen auf festen Nährböden in der Weise angelegt, daß er die erstarrte Schicht von Gelatine oder Agar mit einem Tröpfchen des Aussaatmateriales beimpfte.

a) Für die erste Versuchsreihe diente Würzegelatine, die bei Zimmertemperatur gehalten wurde. Nach Ablauf von 14 Tagen konnte man einen ausgesprochenen Unterschied feststellen hinsichtlich der Form der Kolonieen von B. aceti einerseits und der übrigen beiden Arten andererseits: jene flach und rosettenförmig ausgezackt; diese hingegen leicht gewölbt und ganzrandig. — Die Verschiedenheit im Umrisse der Kolonieen trat in der Folge immer auffälliger hervor. Nach Verlauf von 3 Monaten waren die Kolonieen von B. aceti zu flachen, weit ausgedehnten Rosetten herangewachsen, während denjenigen der beiden anderen Arten diese Form auch jetzt fehlte, wenngleich auch bei diesen der Rand inzwischen sich etwas ausgezackt hatte. Der Mittelteil der Kolonie war bei B. Past. gefältelt, hingegen bei B. Kütz. schuppig.

b) Die zweite Versuchsreihe wurde mit Hilfe des gleichen Nährbodens, jedoch bei höherer Temperatur, und zwar bei 25° C angestellt. Die dabei erhaltenen Ergebnisse wichen von den früher gewonnenen insofern etwas ab, als die Kolonieen von B. Past. manchmal etwas ausgezackt waren und bei B. Kütz. vollkommen gleichmäßige Oberfläche aufwiesen.

c) Für die dritte Versuchsreihe wurde gleichfalls die Temperatur von 25° C gewählt, als Nährboden kam jedoch Doppelbiergelatine in Anwendung. Das Ergebnis war im wesentlichen das gleiche wie bei dem vorhergehenden Versuche: Im Alter von 18—20 Tagen waren die Kolonieen von B. aceti ausgezackt und rosettenförmig; die von B. Past. ganzrandig oder nur wenig ausgezackt und in der Mitte hirnartig gefältelt, durch letzteres Merkmal auch von den Kolonieen des B. Kütz. sich unterscheidend, welche ganzrandig, glatt und faltenlos waren.

Man kann somit sagen: Die aus einer zellreichen Aussaat hervorgegangene Kolonie ist bei B. aceti durch die Rosettenform, bei

B. Past. durch die faltige Oberfläche, und bei B. Kütz. durch den Mangel beider Eigenschaften ausgezeichnet. Diese Merkmale kamen zum Ausdruck bei Verwendung sowohl von Würzegelatine als auch von Doppelbiergelatine.

Die mikroskopische Prüfung der in den ersten beiden Versuchen erhaltenen Plattenkulturen ließ erkennen, daß in den Kolonieen von B. aceti die Kettenform sehr zurücktrat, an deren Stelle überwiegend freie Kurzstäbchen nebst einer Minderheit von Langstäbchen sich vorfanden. Das Gegenteil war der Fall bei den Kolonieen von B. Past., in denen die Anordnung zu Ketten die vorherrschende war, daneben bemerkte man noch Langstäbchen. Das mikroskopische Bild der Kolonieen von B. Kütz. kam dem der erstgenannten Art sehr nahe, ja, hier waren die Kurzstäbchen außer Verband sogar in noch größerer Ueberzahl. Die Färbung der Kolonieen mit Jodlösung war die gleiche wie die der entsprechenden Häute.

Unter Anwendung von Fleischsaftgelatine auf die gewöhnlich geübte Weise angefertigte Plattenkulturen lieferten Kolonieen, von denen jede von einem milchig-trüben Hofe umgeben war, der lebhaftes Farbenspiel (Irisierung) zeigte. Verläßliche Merkmale für eine Artenunterscheidung konnten jedoch nicht gefunden werden.

Das Aussehen der Strich- und der Stichkulturen auf den zuvorgenannten Nährböden wie auch auf Würzeagar lieferte keinerlei Merkmale, die zum Zwecke der Artenerkennung hätten herangezogen werden können.

Verflüssigung des Nährbodens trat in keinem Falle ein. Sporenbildung konnte weder in flüssigen noch auf festen Nährböden hervorgerufen werden.

4) Gestaltsumbildungen.

Die bisher beschriebenen Gestalten sind es nicht allein, unter denen die in Rede stehenden Essigsäurebakterien auftreten können, vielmehr es kommt diesen ein weit mannigfaltigerer Reichtum an Formen zu, die jedoch alle um drei Vorbilder und Hauptgestalten sich gruppieren lassen, nämlich: die Ketten von Kurzstäbchen, dann die Langfäden, endlich die ausgebauchten Formen. Die Feststellung der Bedingungen, unter denen eine bestimmte Form zustande kommt, und die Darlegung der Umstände, unter denen dieselbe in die anderen Formen übergeführt werden kann — das ist der ansprechendste Teil dieser Abhandlung. Der gestaltende Einfluß der Temperatur ist es, der hier eine lehrreiche Beleuchtung erfährt.

Kulturen auf Doppelbier haben ergeben, daß Bacterium Pasteurianum bei allen Temperaturen, die über dem Minimum liegen, ohne jedoch das Optimum stark zu überschreiten, in Form der Ketten von Kurzstäbchen sich entwickelt, welch letztere, wenn unterhalb 15° C herangewachsen, oft außergewöhnlich hohe Abmessungen, insbesondere nach der Breitenrichtung, aufweisen. In kräftigster Entwickelung und schönster Entfaltung tritt die Kettenbildung in der Nähe des Optimums (34°) auf. Die Kurzstäbchen zeigen dann regelmäßige Gestalt und sind von prallem, schwach glänzendem Plasma erfüllt.

Ueberträgt man nun ein wenig einer solchen, bei 34° herangezüchteten Vegetation auf frischen Nährboden und hält diesen bei 40—40,5° C, so tritt eine Umbildung der Gestalt der Zellen ein, die schon binnen wenigen Stunden bemerkbar wird. Die ungefähr 2 μ langen und 1 μ breiten Kurzstäbchen, aus denen die Ketten der Aussaat zusammengesetzt waren, beginnen sich zu strecken. Nach 8—9 Stunden findet man nur Langstäbchen, zum Teil schon außer Verband, zum Teil noch zu Ketten vereint. Doch auch diese verschwinden bald. Nach weiteren 4 Stunden besteht die Kultur ausschließlich aus gestreckten, fadenförmigen Zellen von einer Länge von 40 μ und darüber. Nach Verlauf von 24 Stunden ist die fast ausschließlich nur Kurzstäbchen enthaltende Aussaat zu einem schwachen Häutchen herangewachsen, das aus Langfäden aufgebaut ist, die bei einer Breite von 1—2 μ eine Länge von 400 μ erreichen können. Die eben beschriebene Entwickelung ist vom Verf. mit Hilfe der Böttcher'schen Kammer verfolgt und einwurfsfrei festgestellt worden.

Setzen wir nun die bei 40—40,5° entstandenen Langfäden der Temperatur von 34° C aus, dann bilden sich diese wieder zu Ketten um. Anfänglich bemerkt man nur die bisher angeführten Fadenformen. Aber schon nach 4 Stunden zeigen diese häufig Ausbauchungen, welche in der Folge sowohl an Zahl als auch an Ausbildung zunehmen; zugleich kann man das Zerfallen der Fäden in kürzere Stücke feststellen. Einige Stunden später trifft man nicht nur die Teilung der Fäden in einem vorgerückten Zustande, sondern es hat auch inzwischen die Mannigfaltigkeit der ausgebauchten Formen sich vergrößert. Man kann dann sehr häufig Fäden mit zwei oder noch mehr Anschwellungen finden. Die Teilung eines Langfadens kann ebenso gut an einem seiner Enden als auch an beiden, oder aber an irgend einer Zwischenstelle beginnen; es kann dieser dadurch zu einer Kette sich umbilden, die nur aus Kurzstäbchen besteht, oder aber zu einer solchen, die überdies auch Langstäbchen, unveränderte Fadenstücke und ausgebauchte Formen enthält — kurz, es herrscht hier reiche Abwechselung. Von den letztgenannten Gestalten kann man alle Uebergänge auffinden von der sehr häufigen Spindelform bis zu birnähnlichen, rundlichen Gebilden. Solche von Kugelform, bis zu 10 μ im Durchmesser haltend, sind nicht selten.

Die Fäden zerfallen endlich vollständig zu Kurzstäbchen. Dasselbe Schicksal erfahren die ausgebauchten Formen, nachdem sie sich zuvor noch entsprechend gestreckt haben. Davon ausgenommen bleibt nur deren in der Breitenrichtung stärkstentwickelter Teil, welcher zuletzt, nachdem seine beiderseitigen fädigen Enden zu Kurzstäbchen zerfallen sind, in der umgebenden Flüssigkeit sich auflöst. Untersucht man endlich nach 24 Stunden die Kultur, so zeigt sie sich dann als eine kräftige Haut, die nur Ketten von Kurzstäbchen aufweist. Wir langen damit wieder bei jener Form an, von der wir ausgegangen sind und haben festgestellt, daß auch die dritte der eingangs genannten Hauptgestalten, nämlich die ausgebauchten Formen, in diesen Entwickelungskreis hineingehören. Gestaltgebende Faktoren waren die Temperaturen von 34 und von 40—40,5° C.

Die eine oder die andere wählend, haben wir die eine oder die andere Wuchsform entstehen lassen können.

Außer der Temperatur sind es noch zwei Faktoren, die hierbei von merklichem Einflusse sind, und zwar der Zustand der Zellen der Aussaat und die Art der Nahrung, die man diesen bietet. Sind die Zellen schwächlich oder alt, oder ist der Nährboden, auf den man sie bringt, ein geringer, dann verläuft die Entwickelung mehr oder weniger verschieden von der zuvor beschriebenen. —

Die Schilderung der Gestaltumbildungen, wie sie in dem vorstehenden Abschnitte gegeben worden ist, bezieht sich eigentlich nur auf B. Past. allein. Sie gilt jedoch auch für die beiden anderen Arten, denn auch bei diesen verläuft die Entwickelung der einzelnen Zellformen und deren Uebergang in einander im wesentlichen in derselben Weise. Abweichungen untergeordneter Natur kommen selbstredend vor. So sind z. B. die Langfäden von B. aceti etwas dünner, die von B. Kütz. bedeutend kürzer als diejenigen von B. Past.

So abwechselungreich das Bild der Zellen dieser drei Arten auch ist, so gehört doch das Vorkommen von Verästelungen oder Verzweigungen zu den Seltenheiten.

Lafar (Hohenheim bei Stuttgart).

Delbrück, M., 25 Jahre Brennereigewerbe. (Jubiläums-Nummer der „Deutschen landwirtschaftlichen Presse" vom 7. Dezember 1894.)

Verf., der in seiner Eigenschaft als Direktor der Versuchsstation des Vereins der Spiritusfabrikanten in hervorragender Weise an dem technisch-wissenschaftlichen Ausbau des Brennereigewerbes sich bethätigt hat, giebt unter obigem Titel eine kurze Darstellung des Entwickelungsganges dieses für die Landwirtschaft so hochbedeutsamen Gewerbes, aus der wir Folgendes entnehmen: Der eigentliche Aufschwung des Gewerbes datiert aus der Zeit der 80er Jahre, wo durch die Anwendung des gespannten Dampfes die Kartoffel für den Maisch- und Gärprozeß in zweckmäßiger Weise zerkleinert und aufgeschlossen wird. 1871 erschienen die ersten Notizen über den Hollefreundschen Apparat, der einem liegenden Dampfkessel ähnlich sieht, und im Innern eine Rührvorrichtung besitzt, durch welche die unter Hochdruck gar gewordenen Kartoffeln weiter zerkleinert werden. 1873 überweist Henze seine Erfindung dem Brennereigewerbe. Der erste Henzedämpfer war ein Dampfkessel, aus dem die Flammenrohre entfernt worden waren; er wurde in vertikaler Stellung verwendet. Später wurden die Henzedämpfer in ihrem unteren Teile konisch gearbeitet, um ein vollständiges Ausblasen der gedämpften Masse mittels Dampf zu ermöglichen. Durch besondere Vorrichtungen am Ausblaserohre wurde noch eine Nachzerkleinerung der Masse angestrebt. Mit der Ausbildung dieses Systems wurden auch die Maischapparate entsprechend umgeändert; sie hatten die Aufgabe, bei Innehaltung gewisser Temperaturen eine möglichst schnelle Mischung der Dämpfmasse mit dem Malze zu bewirken. War durch diese Neuerungen einerseits eine Rohstoffersparnis von ungefähr 5 Proz. möglich ge-

worden, so wurde andererseits auch eine Brennmaterial- und Zeitersparnis erreicht; statt 6 Stunden brauchte man nur noch 3 Stunden zur Herstellung der Maische. Durch rationelle Konstruktion der Apparate, die zum Abbrennen der vergorenen Maische und zur Gewinnung des Alkohols dienen, wurde ebenfalls der Dampfaufwand bedeutend reduziert. Die Ausstellung der Spiritusindustrie 1882 stellt den Kulminationspunkt der maschinellen Entwickelung dar.

Die wissenschaftlichen Grundlagen werden im wesentlichen auch erst in den 80er Jahren gelegt. Die Arbeiten Pasteur's haben dem Brennereigewerbe keinen neuen Impuls gegeben. Daß die Gärung ein Vegetationsprozeß sei, diese Erkenntnis war schon Ende der 40er Jahre bei den Fachgelehrten allgemein.

1870 beginnen E. Schulze und M. Märcker ihre „Studien über den Brennereiprozeß". Sie bestimmen den durch unaufgeschlossene Stärke, sowie durch mangelhafte Verzuckerung oder mangelhafte Nachwirkung der Diastase auf das Dextrin entstehenden Verlust, und endlich den durch Nebengärungen, „durch die Unreinlichkeit der Gärung" herbeigeführten. Die Schaffung dieses letzteren Begriffes und die Festlegung, daß 20 Proz. der eingemaischten Stärke in anderer Richtung als der alkoholischen Gärung der Zersetzung anheimfallen können, gab den Antrieb zur Gründung einer besonderen Versuchsstation. Der gärungstechnischen Entwickelung haben insbesondere die Arbeiten von Nägeli, Traube und Delbrück zum Ausgangspunkte gedient. Die „Reinlichkeit der Gärung", die Märcker schon gefordert hatte, wird durch ein zweckmäßiges System der Hefezüchtung und der Gärführung herbeigeführt. Die von Delbrück hierfür zum Teil auf Grund der Nägeli'schen und Traube'schen Arbeit aufgestellten Grundsätze waren folgende:

1) Neben der für den Hefepilz passenden Ernährung ist ein solches „Klima" herzustellen, daß dieses der Hefe günstig, den Spaltpilzen aber schädlich ist. Zum Klima einer Nährlösung gehört außer der Temperatur ihre Gesamtbeschaffenheit, abgesehen von dem Gehalte an Nährstoffen: die Konzentration, die Säuremenge, Grad- und Zeitpunkt der Lüftung, Alkoholgehalt in der Mutterhefe u. s. f.

2) Für die Reinhaltung der Gärung ist die Gegenwart einer gewissen Aussaatmenge von Hefezellen notwendig (nach Nägeli); diese muß so zeitig gegeben werden, wie es die der Hefe zulässigen Temperaturen gestatten; die vollkommene Durchmischung von Maische und Hefe, das Vorstellen sind hier von Bedeutung.

3) Die Gesetze der Ernährung der Hefe (auf Diffusion beruhend) erfordern Bewegung als Förderung des Hefenlebens. Hiernach sind Hefenaussaat, Anstelltemperatur zu regeln.

1879 zeigt Märcker, daß die Vergärung von Dickmaischen Vorteile biete. Delbrück und Heinzelmann wenden zum erstenmal die Gärbottichkühlung an. Märcker und Neale finden in der Gegenwart giftiger Säuren die Ursachen der Schwergärigkeit mancher Melassen. Delbrück weist nach, daß Maisch- und Säuerungstemperatur der Hefenmaische für die Entwickelung der einzelnen Spaltpilze entscheidend sei und daß die Temperatur von 40° R zu einer reinen Milchsäuregärung führe. Hayduck giebt die wesent-

lichsten Aufschlüsse über die Ernährung von Hefe mit Asparagin, das in der Kartoffel reichlich vorhanden; stellt die Beziehungen zwischen der Gärkraft der Hefe und ihrem Stickstoffgehalte fest und begründet das System der Hefemästung und Entmästung; durch Anwendung der Hefezählung wird die Entwickelung der Hefe in der Maische verfolgt; die hemmende Wirkung des Alkohols bei der Hefevermehrung wird festgelegt und in Anbetracht der Thatsache, daß dieselbe bei 5 Proz. Alkohol zum Stillstande kommt, wird der Grundsatz aufgestellt, die Angärung so zu führen, daß zu jenem Zeitpunkte möglichst viel Hefe schon gebildet ist. 1884 gelangen die wissenschaftlich entwickelten Grundsätze durch ein Preisausschreiben über die beste Hefenführung zur allgemeinen Anerkennung; sie lauten: Anwendung einer konzentrierten Maische, Säuerung derselben bei 40° R, Anstellen der gesäuerten Maische mit Hefe bei niederen Temperaturen und hohe Vergärung.

Bei dem Verarbeiten von Dickmaischen spielen die großen Mengen von Trebern eine nicht unwesentliche Rolle. Delbrück studiert den Einfluß der „indifferenten Stoffe“ und findet, daß ein Zuwenig und ein Zuviel derselben für die Gärung nicht günstig. Das Zuviel kann ausgeglichen werden durch die Entschalung oder auch überwunden werden durch die Bewegung der Maische, wobei gleichzeitig die aufgespeicherte Kohlensäure zum Teil fortgeschafft wird, die nach Delbrück und Foth als starkes Hefengift erkannt war. Die Temperatursteigerungen bei gärenden Dickmaischen wurden durch Kühlvorrichtungen in Schranken gehalten. Hesse's bewegliche Wärm- und Kühlschlangen. 22° R gilt als Maximaltemperatur. 11 auch 12 Proz. Alkoholausbeute vom Maischraume war jetzt die Norm.

Mit der Einführung des Hansen'schen Systems der Hefereinzucht kommt die Entwickelung in ein neues Stadium. Lindner isoliert zahlreiche Brennereihefen und stellt das Vorhandensein verschiedener Rassen fest. Eine Hefezuchtanstalt wird vom Verein der deutschen Spiritusfabrikanten ins Leben gerufen, welche planmäßig ausgewählte Rassen in größerem Maßstabe produziert. Seit 2 Jahren in Betrieb, hat sie bereits über die Hälfte der vorhandenen größeren Brennereien mit Anstellhefe versorgt. Trotz der Reinhefe ist aber die Schaumgärung noch nicht in Wegfall gekommen. Delbrück sucht den Grund dieser Erscheinung in dem physiologischen Zustande der Anstellhefe; durch Ueberführung des geilen Zustandes derselben in den trägen mittels hoher Vergärung wird eine gleichmäßigere Gärung erreicht. Aehnlich wirkt das Hesse'sche Verfahren, das auf einer späteren Zugabe von Malz zu unvollständig verzuckerten Maischen beruht. — Neben der Reinhefe wird Flußsäure zur Reinhaltung der Gärung angewendet. Effront, der Erfinder dieses Verfahrens, führt den Nachweis, daß sich Hefe an größere Flußsäuremengen gewöhnen kann und daß solche Hefe dann bei schwächerer Vermehrung doch gärkräftiger wird.

Die Züchtung widerstandsfähiger Kartoffelrassen, die Steigerung der Malzkraft durch passende Auswahl des Getreides und langes Gewächs und endlich die Gewinnung von Sprit direkt aus der Maische bilden die letzten Glieder der technischen Entwickelung des Brennereigewerbes.

Lindner (Berlin).

Henrici, Julius, Beiträge zur Bakteriologie des Käses. [Inaug.-Diss. v. Basel.] 8°. 110 p. Emmendingen 1894.

Bis 1875 faßte man den Käsereifungsprozeß als eine rein chemische Zersetzungserscheinung auf; erst im genannten Jahre stellte Ferd. Cohn die Ansicht auf, derselbe sei durch den Lebensprozeß von Bakterien verursacht. Er untersuchte den Labaufguß einer eingehenden mikroskopischen Untersuchung und fand Bacillen, welche mit denen des Buttersäurefermeuts Pasteur's — beschrieben als Bacillus subtilis Cohn — identisch erschienen.

Duclaux wies dann nach, daß nur bei Gegenwart von Bakterien eine Reifung der Käse stattfinden könne, daß die bei dem Reifungsprozesse in Betracht kommenden Erscheinungen innig an die Gegenwart und die Entwickelung von Mikroorganismen gebunden sind, welche auf Kosten der im Käse vorhandenen Stoffe leben und dadurch die Modifikationen des Geschmackes verursachen.

In der Folge stellte man die Behauptung auf, sämtliche Erscheinungen bei dem Käsereifungsprozesse seien das Produkt eines einzigen Organismus.

Prażmowski widerlegte dann Cohn's Behauptung, daß Bacillus subtilis Buttersäuregärung hervorrufen könnte, da er nicht anaërob zu wuchern vermöge und daher weder das Ferment der Buttersäuregärung, noch überhaupt ein Ferment sein könne.

Weitere Untersuchungen über unseren Gegenstand stammen dann von Fitz, Ferd. Hueppe, Liborius, Weidmann, Roese, E. Schulze, E. Benecke, H. S. von Ditten, Adametz, Freudenreich, Weigmann, Marpmann, Schaffer, Baumann u. s. w.

Sind nun auch die Vorgänge bei dem Käsereifungsprozesse nicht vollständig genau bisher bekannt geworden, sind die daran beteiligten Organismen nicht vollkommen erkannt, so giebt uns Verf. doch einen Ueberblick über den Stand der Frage. Er versucht, die sämtlichen Bakterienarten, welche in 20 verschiedenen Käsearten vorkommen, genau zu bestimmen und zu beschreiben, wobei er die Zahl 70 erreicht, und ermöglicht folgende Sätze aufzustellen:

1) In den verschiedenen Käsesorten ist eine sehr große Anzahl verschiedener Bakterienarten vorhanden.

2) Neben den Bakterienarten kommen in wechselnder Menge je nach der Käsesorte auch Hefearten und Schimmelpilze vor; in manchen Sorten in so überwiegender Menge, daß die Spaltpilze dagegen vollkommen zurücktreten.

3) Hinsichtlich der Verteilung von Hefearten und Bakterien läßt sich feststellen, daß die Schweizerkäse reich an Bakterien und arm an Hefen, die amerikanischen Käsesorten dagegen reich an Hefen und arm an Bakterien waren, und ferner Gouda-, Port-du-Salut-, Cantal-, Limburger- wie Münsterkäse gar keine Hefearten enthielten.

4) Obligat anaërobe Bakterien wurden in keiner Käseprobe gefunden.

5) Da der reife Käse in Bezug auf die Bakterienflora sehr verschieden ist, so ist anzunehmen, daß der Reifungsprozeß entweder durch verschiedene Arten bedingt wird oder daß die denselben bedingenden Arten in reifem Käse bereits abgestorben sind.

6) Als wahrscheinlich bei dem Reifungsprozesse der Käse beteiligt sind folgende Arten zu kennzeichnen: Bac. vesiculiformans, Bac. odorus, Bacterium vesiculosum, Bact. tomentosum, Bact. filiforme, Micrococcus Iris, Microc. grossus, Microc. odorus, Microc. odoratus, Microc. lacteus, Microc. albescens, Microc. olens, Sarcina nivea, Sarc. aurea, Sarc. olens, weil die Kulturen derselben einen eigentümlichen Käsegeruch besitzen.

7) Der Lochungsprozeß der Käse wird nicht ausschließlich durch den Bacillus diatrypeticus casei Baumann veranlaßt, sondern es sind daran jedenfalls verschiedene Mikroorganismen beteiligt.

Auf den weitläufigen experimentellen Teil kann hier natürlich nicht des Näheren eingegangen werden, wie auch die Beschreibung von gefundenen Arten an Ort und Stelle nachzusehen ist.

E. Roth (Halle a. S.).

Cobb, N. A., Diseases of the sugar-cane. (New South Wales Department of Agriculture. Sydney 1893. p. 1—21. Mit 14 Abb.)

Verf. hat eine neue Gummikrankheit des Zuckerrohres entdeckt. Eine von dieser Krankheit befallene Ernte bietet mannigfaltige Symptome dar, welche nach dem Grade der Krankheit verschieden sind. Ist die Ernte nur wenig von der Krankheit befallen, scheint sie in gutem Zustande zu sein. Hier und dort findet man Striche, von deren Halmen einer oder mehrere tote Spitzen besitzen. Der Grund der Sprosse zeigt sich in solchen Fällen verrottet, und gewöhnlich werden ein oder mehrere Höhlungen von beträchtlicher Größe nahe an der Spitze des Halmes erblickt, welche ganz oder teilweise mit schädlichen Stoffen erfüllt sind. Zuerst ist man geneigt, diese Höhlungen dem Eingriffe von Würmern oder Bohrern zuzuschreiben. Dieser Gedanke erweist sich bald als Irrtum, denn es ist kein Ein- und Ausgang zur Höhle, noch sind Exkremente vorhanden. Das Gewebe um diese Höhlungen herum ist im allgemeinen braun, schwarz oder dunkelrot und trieft von einer schleimigen, schädlichen, gelb bis braun gefärbten Substanz. Pflanzen, deren Spitzen an der Krankheit gestorben sind, treiben oft in halber Höhe die Knospen aus, doch ist dies kein für diese Krankheit charakteristisches Symptom. Es kommt auch bei Pflanzen vor, welche von Frost oder Bohrern gelitten haben.

Wenn ein Halm, welcher an der Spitze in der eben beschriebenen Weise getötet worden ist, mit einem scharfen Messer in Stücke geschnitten wird, und zwar so, daß die Oberfläche ganz eben bleibt, so quillt nach einigen Minuten eine honigfarbige, gummiartige Masse langsam aus und bildet an den Enden der durchschnittenen Fibrovasalstränge Tröpfchen. Dies Gummi ist zuweilen fast durchscheinend,

zuweilen ziemlich undurchsichtig und variiert nach dem Krankheitsstadium von farblos bis gelb in verschiedenen Nuancen. Die gummiartige Masse ist gewöhnlich reichlicher nahe der Spitze des Halmes als nahe dem Boden, oder quillt wenigstens leichter aus. Im Laufe einer Stunde oder so ungefähr werden diese Gummitröpfchen so groß, daß sie zusammenfließen und große Tropfen bilden, und wenn 2 oder 3 Dutzend Schnitte sehr kranker Halme in eine dicht verschlossene Dose über Nacht gelegt werden, kann man am Morgen von ihren Enden einen Theelöffel voll des gelben Gummis sammeln. Das Gummi trocknet ein und erscheint dann als glänzend gelbe Flecken am Ende der Schnitzel. Zuweilen quillt das Gummi fast so trocken aus, daß es bei seinem Austritte zu einem gelben, aufgerollten, haarartigen Körper erhärtet, und da jeder Fibrovasalstrang einen solchen Faden bildet, rufen alle Fibrovasalstränge zusammen ein gelbes, moosartiges Aussehen der Schnitzelenden hervor.

Scheinbar gesunde Halme eines Stockes, welcher ein oder mehrere Halme durch die Gummikrankheit bereits vernichtet zeigt, sind auch stets krank. — Ist nur wenig Gummi vorhanden, so quillt es nicht aus und ist dann nur mit dem Vergrößerungsglase wahrnehmbar. —

Die mikroskopische Untersuchung lehrt, daß die Krankheit auf die Gefäßbündel beschränkt ist. Die Gefäße sind erfüllt mit einer gelben körnigen Masse, mit Gummi. In den jungen Geweben an der Spitze des Rohres soll es sich übrigens auch außerhalb der Gefäßbündel finden. Bei starker Vergrößerung bemerkt man, daß das Gummi mit Bacillen erfüllt ist, und zwar von einer bisher nicht beschriebenen Art, dem Bacillus vascularum. Dem Gummi hat Verf. den Namen Vaskulin verliehen. Es soll ein Produkt des genannten Bacillus sein. Verf. will das durch geeignete Infektionsversuche erwiesen haben. Die benutzte Infektionsmethode wird eingehend beschrieben.

Das Vaskulin ist eine gelbe, nicht krystallisierende zähe Substanz von fast unmerklich saurer Reaktion. Der Geschmack ist der einer schwach sauren Lösung von arabischem Gummi. Kurze Zeit, nachdem es aus den Enden des abgeschnittenen Rohres herausgequollen ist, verwandelt es das Zehnfache seines Gewichtes an Wasser in eine Flüssigkeit von der Konsistenz eines Schleimes, wie er für Klebzwecke benutzt wird. Obgleich in Wasser löslich, ist es in Alkohol unlöslich. Ein Zusatz von absolutem Alkohol zu der rohen Substanz verwandelt diese in eine harte Masse, indem sie Wasser verliert; auf Zusatz von Wasser nimmt es bald seine frühere Konsistenz und sein früheres Aussehen an. Es wird durch Alkohol nicht zum Koagulieren gebracht.

Die wässerige Lösung des Vaskulins — die untersuchte enthielt übrigens reichlich Bakterien — wird von Kalkwasser gefällt; der Niederschlag wird auf Zusatz von Salzsäure wieder gelöst. Die Lösung wird ferner gefällt durch Baryum-, Strontium-, Kalium- und Natriumhydrat, aber nicht durch Ammoniumhydrat. Die Niederschläge werden durch Salzsäure wieder gelöst.

Essigsaures Blei und Eisenchlorid fällen die Vaskulinlösung, Eisensulfat, Baryumchlorid oder Silbernitrat nicht. Auf das polarisierte Licht scheint das Vaskulin ohne Einfluß zu sein. Ebenso ist es ohne medizinische Wirkung. — Bacillus vascularum zersetzt Zuckerlösungen nicht.

Die Zusammensetzung des Saftes ist beim kranken Rohre anders als beim gesunden. Je kranker das Rohr, um so geringer der Zuckergehalt.

Große Nässe begünstigt die Krankheit außerordentlich, daher kommt es, daß sie stark am unteren Clarence aufgetreten ist, wo die Flußufer niedrig sind, der Regenfall stark und der Untergrund innerhalb weniger Fuß von der Oberfläche thonig ist.

Die Verbreitung der Krankheit soll nicht durch die Luft stattfinden, das soll durch folgende Beobachtungen bewiesen werden. Ein Feld kann arg vergummt und ein angrenzendes vollkommen gesund sein; der obere Clarence ist verhältnismäßig frei von der Krankheit, während der untere Clarence während mehrerer Jahre stark darunter gelitten hat. „Alle diese Thatsachen sind unverträglich mit der Vorstellung, daß die Krankheit sehr infektiös sei. Andererseits stehen die obigen Thatsachen in Einklang mit der Vorstellung, daß die Krankheit mit der Saat, d. h. den Stecklingen entsteht. Wenn eine Krankheit in dieser Weise fortgepflanzt wird, so erwarten wir, daß eine Ernte aus infizierter Saat infiziert sein wird, oder daß, wenn ein Teil der Saat schlecht und ein Teil gut gewesen ist, etwas von der Ernte gleichfalls gut und der Rest krank sein wird." In drei Fällen am unteren Clarence, wo die Ernten fast völlig fehlgeschlagen waren, ließ sich nachweisen, daß die Stecklinge arg vergummt waren. Als absichtlich kranke Stecklinge ausgelegt wurden, entstanden wieder kranke Pflanzen, als aber gesunde Stecklinge aus anderen Gegenden in die kranken Distrikte eingeführt wurden, wurde eine recht gesunde Ernte erhalten. Bei mikroskopischer Untersuchung hat Verf. gefunden, daß die Zweige der kranken Gefäßbündel aus den Gliedern des Halmes sich in die Knospen an den Knoten fortsetzen, so daß also die Knospen der Stecklinge bereits krank sind, was natürlich krankes Rohr liefern muß. Als Mittel gegen die Krankheit und als Vorbeugemaßregeln wird vom Verf. empfohlen: 1) Auswahl gesunder Stecklinge, 2) gute Drainage, 3) Verbrennung der Rohrabfälle, 4) Fruchtwechsel und Brache, 5) Kultur aus Samen, 6) Verbesserung des Rohres, anzustreben durch Selektion der Stecklinge, 7) eingehendes Studium importierter Varietäten behufs eventuellen Anbaues, 8) damit in Zusammenhang die Anlage von Versuchsfeldern, 9) Auswahl von widerstandsfähigeren Varietäten als die angebauten.

Wieler (Braunschweig).

Frank, Phoma Betae, ein neuer Rübenpilz. (Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten. Bd. III. p. 90—92.)

Verf. bespricht hier in Kürze den von ihm a. a. O.[1]) ausführ-

1) Zeitschrift des Vereins für Rübenzuckerindustrie. 1892. Dezember-Heft. — Wei-

licher beschriebenen Parasiten der Zuckerrübe und weist auf die wahrscheinliche Identität mit dem inzwischen von Prillieux und Delacroix[1]) am gleichen Orte beobachteten und als Phyllosticta tabifica beschriebenen Pilz hin. Demzufolge wäre die Krankheit (Herzfäule) also auch in Frankreich (bei Mondoubleau) konstatiert.

Zutreffenfalls wäre der von diesen beiden Beobachtern gegebene Name nicht glücklich gewählt, da als Phyllosticta kleine, in begrenzten Blattflecken auftretende Spermogonienformen benannt werden, die Früchte des hier in Frage stehenden Pilzes aber vorwiegend am Rübenkörper und an den Blattstielbasen über unbegrenzte Partieen verteilt auftreten und relativ große Kapseln darstellen. Auf Grund der vom Verf. für ihre Sporen nachgewiesenen Keimfähigkeit erweisen sie sich als Pykniden und entsprechen somit allen Eigenschaften der Gattung Phoma.

Mit anderen der bisher auf Beta beobachteten Pilze ist die Art nicht identisch, insbesondere ließ sich auch ein Anhalt für die Zusammengehörigkeit mit Sporidesmium putrefaciens nicht finden.

Wehmer (Hannover).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

DR. WILHELM WINDISCH.

Allgemeines über Bakterien und andere Mikroorganismen.

Fischer, Alfred, Untersuchungen über Bakterien. (Jahrbücher f. wissensch. Bot. Bd XXVII. 1895. p. 1.)

Fraenkel, C. u. Pfeiffer, R., Mikrophotographischer Atlas der Bakterienkunde. 2. Aufl. Lfg. 11 u. 12. gr. 8°. 10 Lichtdr.-Taf. m. 10 Bl. Erklärgn. Berlin (Hirschwald) 1894. 4 M.

Systematik, Morphologie und Biologie der Bakterien und anderer Mikroorganismen.

Dieudonné, A., Beiträge zur Beurteilung des Lichtes auf Bakterien. (Arb. a. d. kaiserl. Gesundheits-A. 1894. Bd. IX. No. 3. p. 405—413.)

— —, Beiträge zur Kenntnis der Anpassungsfähigkeit der Bakterien an ursprünglich ungünstige Temperaturverhältnisse. (l. c. p. 492—508.)

Gamaleïa, N. F., Heteromorphismus der Bakterien unter dem Einfluß von Lithiumsalzen. (Wratsch. 1894. p. 541, 578.) [Russisch.]

Mac Fadyen, A. and **Blaxall, F. R.**, Thermophilic bacteria. (Brit. med. Journ. No. 1760. 1894. p. 644.)

Migula, W., Ueber den Zellinhalt von Bacillus oxalaticus Zopf. (Aus: Arbeiten des bakt. Inst. der gr. Hochschule in Karlsruhe.) gr. 8°. 11 p. m. 1 farb. Taf. Karlsruhe (Otto Nemnich) 1894.

---

tere Mitteilungen machte auch Krüger, wozu das Referat in Jahrg. 1894 dieses Centralblattes zu vergleichen.

1) Bullet. de la Société mycolog. de France. VII. p. 15.

Allgemeine Gärungsphysiologie.

Aderhold, R., Die Morphologie der deutschen Saccharomyces ellipsoideus-Rassen. (Landwirtschaftl. Jahrbücher. 1894. Heft 4. p. 587.)

Börsch, Karl, Beitrag zur Kenntnis der Bakterien des Weines. Beitrag zur Kenntnis der Hefen. [Inaug.-Diss.] 8°. 32 p. Erlangen 1894.

Dubor, G. de, Viticulture moderne (la vigne, espèces et variétés; établissement d'un vignoble; culture des vignes en serre; accidents et maladie de la vigne; vinification). 8°. 156 p. 100 grav. Paris (Larousse) 1894. 2 fr.

Giltay, E. und **Aberson, J. H.**, Ueber den Einfluß des Sauerstoffzutrittes auf Alkohol und Kohlensäurebildung bei der alkoholischen Gärung. (Jahrb. f. wissensch. Bot. Bd. XXVI. 1894. p. 543.)

Grimbert, L., Fermentation anaérobie produite par le „Bacillus orthobutylicus", ses variations sous certaines influences biologiques. (Journ. de Pharm. et Chim. 1894. p. 281—288.)

Hotter, E., Die Verbesserung der Weine durch die reingezüchteten Weinhefen. 8°. 12 p. Graz (Verlag des Obstbauvereins für Mittelsteiermark) 1894.

— —, Ueber die Bouquettstoffe des Weines. (Mitteilungen aus der Pomologischen Versuchsstation des Obstbauvereins für Mittelsteiermark. 1894.) 8°. 3 p. Graz 1894.

Jörgensen, A., Les microorganismes de la fermentation. Trad. p. **P. Freund.** Av. 56 fig. 8°. Paris (Société d'édit. scientif.) 1894.

Kayser, E., Sur la fermentation lactique. (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1894. No. 11. p. 737.)

Maître, Vin de dattes et vin de figues. (Journ. de Pharm. et de Chim. 1894. 15 oct.)

Munson, T. V., Explorations viticoles dans le Texas. (Revue de viticulture. 1894. Année I. T. II. p. 369.)

Wortmann, Julius, Die seitherigen Erfahrungen der Praxis mit reinen Hefen und die Konsequenzen, welche sich hieraus für die Züchtung, sowie die Anwendung der Reinhefen ergeben. (Mitteilungen über Weinbau und Kelterwirtschaft. Bd. VI. 1894. No. 10/11. p. 145.)

— —, Untersuchungen über reine Hefen. (Landwirtsch. Jahrb. 1894. Heft 4. p. 535.)

Preſshefenfabrikation.

Bau, A., Nachweis von Unterhefe in obergäriger Preßhefe. (Zeitschr. f. Spiritusindustrie. 1894. No. 46. p. 374.)

Molkerei.

Adametz, L., Beitrag zur Kenntnis der Streptokokken der gelben Galt. (Journ. f. Landwirtschaft. Bd. XLII. 1894. p. 231.)

Bisch, T. M.. Some of the chemical and bacteriological characteristics of milk. (Transact. of the assoc. of Americ. physic. 1894. p. 185—192.)

Weilandt, Die Rahmsäuerung mittels Reinkulturen. (Milchzeitung. Jahrg. XXIII. 1894. No. 49. p. 779.)

Essigfabrikation.

Hansen, E. Chr., Recherches sur les bactéries acétifiantes. (Annal. de microgr. 1894. No. 8, 9. p. 385—395, 441—470.)

Zuckerfabrikation.

Horton, H. E., Gärung von Glukosesyrupen. (The Journal of the American Chem. Soc. Vol. XVI. 1894. p. 809.)

Nahrungs- und Genußmittel, Konserven etc.

Auché, Bacilläre Rotfärbung der Sardinen. (Zeitschr. für Fleisch- und Milchhyg. Bd. II. 1894. p. 135.)

Balland, Observations sur les farines. (Extr. de la Revue du service de l'intendance. 1894.) 8°. 26 pp. Paris (libr. Charles Lavauzelle) 1894. —,75 fr.

Gehe und **Co.**, Natriumacetat als Konservierungsmittel. (Pharm. Ztg. Bd. XXXIX. 1894. p. 281.)

Koch, Alfred, Vergleichende bakteriologische Untersuchung über die Haltbarkeit der Norweger- und Nordsee-Schellfische, im Auftrag der Sektion für Küsten- und Hochseefischerei ausgeführt. (Mitt. der Sektion für Küsten- und Hochseefischerei. 1894. No. 8.) Berlin (W. Moeser, Hofbuchdruckerei) 1894.

Kulisch, P., Ueber Weinuntersuchung und Weinbeurteilung. (Mitteilungen über Weinbau und Kellerwirtschaft. Bd. VI. 1894. No. 10/11. p. 156.)

Prehl, A. W., Ueber den Einfluß des Salzes auf die Produkte des Einsalzens. (Journ. f. med.-chem. Pharm. Bd. II. 1894. p. 57.)

Thoms, H., Untersuchung von Konservenbüchsen. (Ber. d. pharm. Ges. 1894. p. 87.)

Boden.

Cavalieri, Ricc., I concimi chimici e la loro applicazione razionale in relazione all' agricoltura ferrarese. 16°. 113 p. Paris (Anton Toddei e figli edit.) 1894. 1 fr.

Gain, Edmond, Précis de chimie agricole. 8°. VIII, 436 pp. avec fig. Paris (Baillière et fils) 1894.

Oberlin, Chr., Betrachtungen über die Verjüngungsmethoden der Weinberge im allgemeinen. (Mitteilungen über Weinbau und Kellerwirtschaft. Bd. VI. 1894. No. 10/11. p. 166.)

Privat, Gustave, Aide-mémoire ou Mémento du vigneron et petit dictionnaire ampélographique abrégé, alphabétique, descriptif, donnant plus de trois mille cinq cents noms ou synonymes des variétés de vignes de cuve et de table françaises, américaines et autres, avec une petite notice sur l'industrie de la vigne dans le Beaujolais. 2. mille. 8°. 135 p. Avec fig. Montpellier (Coulet) 1894. 2,50 fr.

Tamaro, D., La concimazione della vite. (Annuario generale per la viticoltura e la enologia. Anno III. 1894.)

Turié, De la magnésie et des sulfates dans les vins récoltés sur les sables marins. (Journ. de Pharmacie et de Chimie. 1894. 15 août.)

Durch Parasiten verursachte Krankheiten der Pflanzen.

Atkinson, Geo. F., Leaf curl and plum pockets. (Cornell University Agricult. Experiment Station. Bulletin No. 73. 1894. p. 319—355. Mit 20 Taf.)

Barbier, Albert, L'Altise de la Vigne. [Fin.] (Revue de viticulture. Année I. Tome II. 1894. p. 347. Avec fig.)

Bericht über die Verbreitung der Reblaus (Phylloxera vastatrix) in Oesterreich in den Jahren 1892 und 1893. Nebst den Gesetzen, Verordnungen und Erlässen, betr. die Reblaus. Veröffentlicht im Auftrag des k. k. Ackerbauministeriums. gr. 8°. 116 pp. Wien (Verlag des k. k. Ackerbauministeriums) 1894.

Biedenkopf, Hermann, Ustilago medicans, ein neuer Brand auf Gerste. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. IV. 1894. Heft 6. p. 321.)

Dietel, P., Descriptions of new species of Uredineae and Ustilagineae with remarks on some other species. II. (Bot. Gaz. 1894. p. 302.)

Ebert, R., Ueber Allantonema mirabile, Sphaerularia Bombi und Heterodera Schachtii. (Sitzungsberichte und Abhandlungen der naturwissenschaftl. Gesellschaft Isis in Dresden. Abhandl. 1894. I. p. 18.)

Eisbein, C. J., Die kleinen Feinde des Zuckerrübenbaues. 2. Aufl. 8°. III, 45 pp. Mit Abbildungen und 8 farbigen Tafeln. Berlin (R. Kühn) 1894. 1,25 M.

Eriksson, Jakob und **Henning, Ernst**, Die Hauptresultate einer neuen Untersuchung über die Getreideroste. [Fortsetzung und Schluß.] (Sep.-Abdr. aus Zeitschr. f. Pflanzenkrankheiten. Bd. IV. 1894. Heft III—V. p. 140—142, 198—203, 258—261.).

Fairchild, D. G., Bordeaux mixture as a fungicide. (U. S. Dep. of Agriculture; Div. of Veg. Pathology. Bulletin No. 6. Washington, D. C. 1894. p. 1—55.)

— — Experiments with fungicides to prevent leaf blight of nursery stock. (Journ. of Mycol. T. VII. 1894. No. 4. p. 338—353.)

Fischer, Ed., Ueber eine Erkrankung der Rottanne im Thanwalde bei Rüeggisberg (Ct. Bern). (Sep.-Abdr. aus Schweizerische Zeitschrift für das Forstwesen. 1894. Heft XI.) 8°. 5 pp.

Foerste, Aug. F., Notes on dédoublement. (The Botanical Gaz. Vol. XIX. 1894. p. 460—465. Fig.)

Frank, A. B., Die Krankheiten der Pflanzen. Ein Handbuch für Land- und Forstwirte, Gärtner, Gartenfreunde, Obstbauer und Botaniker. 2. Aufl. Bd. I. 8°. XII, 344 p. Mit Holzschnitten. Breslau (Ed. Trewendt) 1894. 6 M.

Galloway, B. T., Report of the chief of the division of vegetable pathology for 1893. Washington, D. C. 1894. p. 31.

— — A new method of treating grain by the Jensen method for the prevention of smut. (Journ. of Mycol. T. VII. 1894. No. 4. p. 372—373.)

Hartig, R., Textbook of the diseases of trees. Translated by **William Somerville**. Rev. and ed. with a preface by **H. Marshal Ward**. 8°. 346 p. London (Nutt) 1894.

Hitchcock, A. S., und **Carleton, M. A.**, Rusts of grain. II. (Kansas Experiment Station. Bullet. No. 46. 1894.)

Janczewski, Ed., Cladosporium herbarum i jego najpospolitsze na zbożn towarzysze (Recherches sur Cladosporium herbarum et ses compagnons habituels sur les céréales). (Bull. de l'Acad. des Sciences de Cracovie. 1894. 45 p. 4 Taf.)

Krüger, W., Kurze Charakteristik einiger niederer Organismen im Saftflusse der Laubbäume. (Hedwigia. Bd. XXXIII. 1894. Heft 5. p. 241—266.)

Lavergne, Gaston et **Marre, E.**, Nouvelles observations sur les caractères extérieurs du Black-Rot. (Revue de viticulture. Année I. Tome II. 1894. p. 498—501.)

Ludwig, F., Ueber einen neuen pilzlichen Organismus im braunen Schleimflusse der Roßkastanie (Eomyces Criéanus n. g. et sp.). Mit 1 Figur. (Centralbl. f. Bakteriologie und Parasitenkunde. Bd. XVI. 1894. No. 22. p. 905—908.)

Pierce, Newton B., Prune rust. (Journ. of Mycol. T. VII. 1894. No. 4. p. 354—362. Pl. 34—37.)

Prunet, A., Sur une chytridinée parasite de la vigne. (Compt. rend. T. CXIX. 1894. No. 14. p. 572—574.)

— — Le Pourridié de la vigne. (Revue de viticulture. Année I. Tome II. 1894. No. 45. p. 403.)

Rasch, W., Eulenraupen als Rebenfeinde. (Mitteilungen über Weinbau und Kellerwirtshaft. Bd. VI. 1894. No. 10/11. p. 178.)

Ridolfi, G. B., La Cochylis ambiguella e il modo di combatterla. (Estr. dal giornale di agricoltura e commercio della Toscana, L'Amico del contadino. 1894. No. 12, 13.) 8°. 12 pp. Firenze (Minorenni corrigendi) 1894.

Rodriguez, Santos José, Azufre: la peronospora de la vid. 8°. 29 pp. Roma (tip. Poliglotta) 1894.

Schiller-Tietz, Die Bekämpfung von Pflanzenparasiten durch Lysol. (Fühling's landwirtschaftl. Zeitg. 1894. No. 19. p. 603—605.)

Smith, Erwin F., Field notes for 1893. (Journ. of Mycol. T. VII. 1894. No. 4. p. 373—378. Pl. 38.)

Smith, William G., Untersuchung der Morphologie und Anatomie der durch Exoascen verursachten Sproß- und Blatt-Deformationen. [Inaug.-Dissert.] (Sep.-Abdr. aus Forstlich-naturwissenschaftl. Zeitschr. Jahrg. III. 1894.) 8°. 49 pp. 1 Tafel. München (W. Rieger) 1894.

Sorauer, Paul, Eine mit der „Sereh" des Zuckerrohres verwandte Krankheitserscheinung der Zuckerrüben. (Export. 1894. No. 30.)

— — Die Untersuchung von Eduard Janczewski über Cladosporium herbarum. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. 1894. Bd. IV. Heft 6. p. 321.)

Stinson, J. T., Spraying apple trees. (Arkansas Agric. Experiment Station. 1894. Bullet. No. 26. p. 23—33.)

— — Bitter Rot. (ibid. p. 33—44.)

Swingle, W. T., An improved method of making Bordeaux mixture. (Journ. of Mycol. T. VII. 1894. No. 4. p. 365—371.)

Targioni Tozzetti, Ad. e **Del Guercio, G.**, Sulle emulsioni insetticide di sapone e sopra alcune esperienze tentate, per determinare la via e il meccanismo della laro azione mortifera sopra gli insetti: nota. (Extr. dal Giornale di agricoltura e commercio della Toscana, L'Amico del contadino. 1894. No. 13.) 8°. 7 pp. Firenze (tip. gli Minorenni corrigendi) 1894.

Taylor, Thomas, Report of the chief of the division of Microscopy for 1893. 5 p. 7 Taf. Washington 1894.

Toumey, Jas. W., Preliminary report of observations on the „crown-knot". (Arizona Agricult. Experiment Station. Series II. Bull. No. 1. 1894. p. 1—11.)
Viala, F. et **Ravaz, L.**, Sur les périthèces du Rot blanc de la Vigne (Charrinia Diplodiella). (Compt. rend. T. CXIX. 1894. No. 8. p. 443—444.)
Viala, Pierre, Oïdium d'Europe et Oïdium d'Amérique. [Fin.] (Revue de viticulture. Année I. Tome II. 1894. p. 465—468.)
Waite, M. B., Treatment of pear leaf blight in the orchard. (Journ. of Mycol. T. VII. 1894. No. 4. p. 333—337. Taf. 32—33.)
Webber, H. J., Preliminary notice of a fungous parasite on Aleyrodes citri R. & H. (Journ. of Mycol. T. VII. 1894. No. 4. p. 363—365.)
Wény, J., Die Phylloxera vastatrix gallicola. (Weinlaube. 1894. No. 30. p. 352—353.)

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien.

Garcia, Beeinflussung der Fleischfäulnis durch Zuckerzusatz und Luftabschluß. (Zeitschr. f. Fleisch- und Milchhyg. 1894. Bd. IV. p. 141.)
Hankin, E. H., The disinfection of wells. (Indian med. Gaz. 1894. No. 11. p. 412—415.)
Mann, H. H., Action de certaines substances antiseptiques sur la levure. (Ann. de l'Inst. Past. Jahrg. 8. 1894. p. 786.)
Pottevin, H., Recherches sur le pouvoir antiseptique de l'aldehyde formique. (Ann. de l'Inst. Past. Jahrg. 8 1894. p. 796.)
Yabe, K., Giftige Wirkung der Hydroxylderivate des Benzols auf Hefe und Bakterien. (College of Agriculture. Bull. 2. p. 73—75. Tokio-Komaba.)

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

1895. Centralblatt Bd. I. No. I.
für Bakteriologie und Parasitenkunde.
II. Abteilung.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Bis jetzt sind erschienen:

Lieferung 1. **Finkelnburg, C.**, Professor an der Universität Bonn, ***Geschichtliche Entwickelung und Organisation der öffentlichen Gesundheitspflege in den Kulturstaaten.*** Preis 80 Pf.

Lieferung 2. **Munk, Emanuel**, Dr. med., Docent an der Universität Berlin, ***Einzelernährung und Massenernährung.*** Preis: 3 M.

Lieferung 3. **Wernich**, Dr. **A.**, Regierungs- u. Medicinal-Rat in Berlin, ***Leichenwesen einschl. der Feuerbestattung.***
Wehmer, R., Dr., Regierungs- u. Medicinal-Rat in Coeslin, ***Abdeckereiwesen.*** Preis: 3 M. 50 Pf.

Lieferung 4. **Fodor, Joseph von**, Professor der Hygiene an der Königl. Ung. Universität zu Budapest, Mitglied der Ung. Akademie der Wissenschaften, L. L. D. (hon. c.) der Universität zu Cambridge etc. etc., ***Hygiene des Bodens, mit besonderer Rücksicht auf Epidemiologie und Bauwesen.***
Einzelpreis: 4 M. 50 Pf., Subscriptionspreis: 3 M. 60 Pf.

Lieferung 5. **Osthoff, Georg**, Regierungs-Baumeister und Stadt-Baurat a. D., Vorstand der Gesellschaft für Markt- und Kühlhallen zu Berlin, ***Anlagen für die Versorgung der Städte mit frischen Lebensmitteln. Markthallen, Schlachthöfe, Viehmärkte.*** Einzelpreis: 2 M. Subscriptionspreis: 1 M. 50 Pf.

Lieferung 6. **Schultze, R.**, Stadt-Bauinspektor in Köln, ***Volks- und Hausbäder.***
Büsing, Dr. **Fr. W.**, Professor an der technischen Hochschule in Charlottenburg, ***Die Sicherheit in Theatern und in grösseren Versammlungsräumen.*** Einzelpreis: 1 M. 80 Pf., Subscriptionspreis: 1 M. 20 Pf.

Lieferung 7. **Assmann**, Dr. **Richard**, Professor in Berlin, ***Das Klima.***
Schellong, Dr. **O.**, Arzt in Königsberg i. Pr., ***Akklimatisation und Tropenhygiene.*** Einzelpreis: 2 M. 50 Pf., Subscriptionspreis: 2 M.

Lieferung 8. **Stutzer**, Dr. **Albert**, Professor und Vorsteher der landwirtschaftlichen Versuchsstation Bonn, ***Nahrungs- und Genussmittel.***
Einzelpreis 4 M. 50 Pf., Subscriptionspreis 3 M. 50 Pf.

Lieferung 9. **Kratschmer**, Dr. **Florian**, k. u. k. Stabsarzt u. a. o. Universitätsprofessor in Wien, ***Die Bekleidung.*** Einzelpreis: 2 M., Subscriptionspreis 1 M. 50 Pf.

Lieferung 10. **Richter, E.**, Bauinspektor und Vorstand der Abteilung für Sielwesen, Strassenreinigung und Abfuhr am Centralbureau des Ingenieurwesens der I. Sektion der Baudeputation in Hamburg, ***Strassenhygiene, d. i. Strassenpflasterung, -Reinigung und -Besprengung sowie Beseitigung der festen Abfälle.*** Einzelpreis: 2 M. 80 Pf., Subscriptionspreis: 2 M.

Lieferung 11. **Weyl**, Dr. **Theodor**, ***Die Gebrauchsgegenstände im Anschluss an die Gesetzgebung des deutschen Reiches und der übrigen Kulturstaaten.*** Einzelpreis: 2 M., Subscriptionspreis: 1 M. 50 Pf.

Lieferung 12. **Roth**, Dr. **Edm.**, Regierungs-Medicinalrat in Oppeln, **Bluhm**, Dr. **Agnes**, Arzt in Berlin, **Kraft, Max**, o. ö. Professor der technischen Hochschule in Graz, ***Gewerbehygiene.*** **Teil I.** ***Allgemeine Gewerbehygiene und Fabrikgesetzgebung.*** Einzelpreis: 6 M. Subscriptionspreis: 4 M. 50 Pf.

Lieferung 13. **Blasius**, Dr **R.**, Professer in Braunschweig, **Büsing, F. W.**, Professor an der technischen Hochschule in Charlottenburg, ***Die Städtereinigung. — Einleitung, Abfuhrsysteme, Kanalisation.***
Einzelpreis: 8 M., Subscriptionspreis: 6 M.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie und Parasitenkunde.

Zweite Abteilung:

Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie und Pflanzenpathologie.

In Verbindung mit

Prof. Dr. **Adametz** in Krakau, Dr. W. M. **Beyerinck** in Delft, Prof. Dr. **A. B. Frank** in Berlin, Dr. **v. Freudenreich** in Bern, Prof. Dr. **Emil Chr. Hansen** in Kopenhagen, Dr. **Lindner** in Berlin, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Prof. Dr. **Stutzer** in Bonn, Privatdocent Dr. **Wehmer** in Hannover, Dr. **Weigmann** in Kiel, Dr. **Wilfarth** in Bernburg und Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg

herausgegeben von

Dr. O. Uhlworm in Cassel.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

I. Band. Jena, den 30. Januar 1895. **No. 2.**

Preis für den Band (26 Nummern) 16 Mark.

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde" richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige ***Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.***

Original - Mittheilungen.

Ueber Spirillum desulfuricans als Ursache von Sulfatreduction.

Von Dr. **W. M. Beyerinck**

in Delft.

Mit 4 Figuren.

(Fortsetzung.)

Die Bindung eines Teiles des Schwefels beim Aufbau des Bakterienkörpers wird dann wichtig werden, wenn sehr viel organische Stoffe in

der ursprünglichen Lösung vorkommen, so daß auch viel organisiertes Material entstehen muß. Da die Reduktionsversuche jedoch in beinahe ganz klaren Flüssigkeiten verlaufen können, woraus hervorgeht, daß die Masse des Sulfidfermentes, welches sehr aktiv ist, nur verschwindend klein zu sein braucht, selbst um sehr beträchtliche Sulfatmengen zu reduzieren, so ist es klar, daß in der Schwefelbindung als organisierte Substanz jedenfalls nicht immer eine beträchtliche Quelle des Schwefeldefizits gelegen sein kann.

Eine sehr beträchtliche Fehlerquelle muß dagegen entstehen, wenn Sulfite gegenwärtig sind und die Flüssigkeit angesäuert wird. Denn wenn auch Sulfite in neutraler Lösung sich bei der Jodmethode quantitativ wie Schwefelwasserstoff betragen, so ist dies durchaus nicht mehr der Fall bei Gegenwart einer Säure, wodurch schwefelige Säure entsteht, welche unter Schwefelbildung einen Teil des Schwefelwasserstoffes zerlegt und so zu einer doppelten Fehlerquelle veranlaßt.

Wenn man ferner überlegt, daß das bei der Dosierung verwendete Jod viermal mehr reduzierte Schwefelsäure anzeigt, wenn diese als Thiosulfat titriert wird, wie wenn als Schwefelwasserstoff bestimmt [1]), so sieht man, daß eine geringe Menge Thiosulfat ebenfalls einen sehr merklichen Effekt auf die Rechnung ausüben muß. Da ich auf Grund des Verhaltens meiner reduzierten Lösungen Silber-, Eisen- und Zinksalzen gegenüber wirklich auf Sulfit- oder Thiosulfatgegenwart glaube schließen zu müssen, wenn es auch noch nicht gelang, diese Körper als solche abzuscheiden, so scheint mir, daß hier eine weitere Untersuchung mit Aussicht auf Erfolg wird einsetzen können [2]).

Kurz, ich glaube, daß die Bildung von Thiosulfaten oder Sulfiten neben derjenigen von Sulfiden bei der Sulfatreduktion stattfinden muß. Da jene Körper aber, wie wir gesehen haben, an sich sehr leicht reduzierbar sind, muß es möglich sein, dieselben doch schließlich wieder in Sulfide zu verwandeln.

Wenn aus dem Vorhergehenden erhellt, daß eine quantitative Schwefelsäurebestimmung in Wasser vermittelst des Reduktionsverfahrens noch nicht gefunden ist, so ergiebt sich daraus zu gleicher Zeit, daß weitere Versuche in dieser Richtung nicht aussichtslos sind, was besonders deshalb betont werden mag, weil die Reduktionsversuche an sich außerordentlich einfach eingerichtet werden können. Es würde zur Erreichung jenes Zieles nur nötig sein, dem Reduktionsprozesse einen konstanten Verlauf zu geben, was wohl viel-

1) Dieses geht hervor aus den Formeln $H^2S + 2J = 2HJ + S$ und $2(S^2O^3Na^2) + 2J = 2NaJ + S^4O^6Na^2$, woraus sich ergiebt, daß 1 cm^3 Normaljodlösung (127 mg) mit 40 mg SO^3 korrespondiert, wenn dieses in Schwefelwasserstoff, dagegen mit 160 mg SO^3, wenn dieses in Thiosulfat übergegangen ist.

2) Grabenwasser an sich absorbiert zwar etwas Jod (destilliertes und Leitungswasser thun dieses ebenfalls), doch hat sich durch Titrierung mit tausendstel Normaljodlösung herausgestellt, daß der Betrag so klein ist, daß ich bei meinen Versuchen damit nicht zu rechnen hatte. Ich will hier noch schließlich bemerken, daß ich mit Hilfe von Kaliumjodat zwar vergebens nach Sulfiten gesucht habe, doch läßt diese Reaktion an Sicherheit zu wünschen übrig, wenn sie in so komplizierter Lösung, wie die uns hier beschäftigende, verwendet wird.

leicht durch Zusatz bestimmter anorganischer Salze, wie Kochsalz, gelingen dürfte.

Was nun die praktische Ausführung der Bestimmungen betrifft, so mag hier folgendes hervorgehoben werden.

Der ganze Reduktionsversuch muß, wie gesagt, bei Sauerstoffabschluß stattfinden. Da es erwünscht ist, mit großen Flüssigkeitsmengen zu experimentieren, verwende ich Glasflaschen von 2 l Inhalt oder (weißglasige) gewöhnliche Flaschen mit „Bierverschluß", welche bis zum Stöpsel anzufüllen und luftdicht zu verschließen sind. Anfangs arbeitete ich mit der bekannten, aus einem Stücke geblasenen Gaswaschflasche, wobei ich beim Titrieren leicht durch Wasserstoffdruck eine bestimmte Zahl von cm^3 in die titrierte Jodlösung überführen konnte. Doch bin ich später zu den gewöhnlichen Stöpselflaschen gekommen, womit sich für unseren Zweck genau genug arbeiten läßt. Auch habe ich viele Versuche in großen Standgläsern von vier und mehr Litern Inhalt, welche einfach gänzlich mit der zu reduzierenden Flüssigkeit angefüllt und vermittelst einer auf dem Wasser und dem Rande liegenden Glasplatte abgeschlossen waren, mit bestem Erfolge ausgeführt. Der gelöste Sauerstoff wird bald durch die saprophyten Bakterien absorbiert und wenn der organische Stoff nahezu verschwunden und dabei das Medium sauerstofffrei geworden ist, fängt das Sulfidferment sich zu vermehren und zu reduzieren an. Ist noch viel organische Substanz nach dem Verbrauch des Sauerstoffes vorhanden, so kann eine Lüftung notwendig werden, ohne welche Reduktion überhaupt nicht eintreffen würde, weil dem Sulfidfermente schädliche organische Körper vorher durch die anderen Bakterien zerlegt werden müssen. Die Kunst der Reduktionsversuche besteht darin, die Menge der zugesetzten Nahrung eben zureichend zu machen zur Erlangung und Erhaltung der Anaërobiosis des Sulfidfermentes bei Gegenwart einer sehr verschiedenartigen Flora und Fauna von Nebenfermenten.

Nachdem das niemals fehlende Präzipitat gut durch Schütteln in der Flüssigkeit verteilt ist, wird je nach Umständen 10, 25, 50 cm^3 vermittelst einer Stielpipette aus der Tiefe gesaugt und die Flasche wieder mit der ursprünglichen Flüssigkeit gänzlich angefüllt, verschlossen und zu weiterer Reduktion im Brutschranke gelassen. Der Inhalt der Pipette wird in einer bestimmten, dem Schwefelwasserstoff mehr als entsprechenden Menge (durch einen Vorversuch ist festgestellt, wie viel Jod ungefähr notwendig ist) der hundertstel normalen Jodlösung gegeben [1]), welche mit Salzsäure angesäuert ist, damit etwa vorhandene Sulfide ihren Schwefel als Schwefelwasserstoff entbinden. Die Trübung, welche dabei entsteht, rührt von freiem Schwefel her, welcher sich unter der Einwirkung des Jods bildet. Läßt Salzsäure an sich, nach der Lösung der Hauptmasse des Präzipitates, eine bleibende Trübung zurück, so rührt diese von auf andere Weise gebildetem freiem Schwefel her und bezeichnet eine der oben besprochenen Verlustquellen. Das Uebermaß der verwendeten Jod-

1) Diese Lösung wird hergestellt durch ca. 1,27 g Jod, in einigen cm^3 einer konzentrierten Jodkaliumlösung aufzulösen und dann so mit Wasser zu verdünnen, daß genau 1,27 g Jod auf einen Liter Flüssigkeit kommt.

lösung wird mit hundertstel normaler Thiosulfatlösung[1]) zurücktitriert und diese Zahl von der ursprünglich verwendeten Menge abgezogen und in cm^3 Normaljod pro Liter der Versuchsflüssigkeit ausgedrückt; die reduzierte Schwefelsäure wird dann sofort bekannt, da 1 cm^3 Normaljodlösung 17 mg Schwefelwasserstoff und 40 mg SO^3 entspricht, wenn bezüglich der Reduktion vorausgesetzt wird, daß nur Schwefelwasserstoff aus der verschwundenen Schwefelsäure entstanden ist.

5. Sulfatreduktion in Wasser und in Nährflüssigkeiten durch die Rohkultur des Sulfidfermentes[2]).

Es ist nicht schwierig in Wasser oder in verdünnten, nicht sterilisierten Nährlösungen eine vollständige Sulfatreduktion herbeizuführen. In der Natur, z. B. in dem Stadtgraben, findet der Vorgang, wenn auch nicht bis zum völligen Schwinden der Sulfate, im Sommer, bei starker Verunreinigung des Wassers durch Spülwasser bekanntlich sehr ausgiebig statt, wobei als Endprodukt Schwefelwasserstoff entsteht. In manchen holländischen Städten handelt es sich hierbei um einen wahren Schrecken und allein umfassende und kostspielige Wasserwerke sind imstande, darin Verbesserung zu bringen. Sobald der Reduktionsvorgang allgemein wird, sinkt der Sauerstoffgehalt des Wassers auf Null, oder vielleicht besser gesagt, sobald das Bakterienleben durch den Gehalt des Wassers an organischen Stoffen den Sauerstoffgehalt des Wassers auf Null bringt, fängt die Sulfatreduktion im Großen an. Daß damit ein allgemeines Absterben der Fische einhergeht[3]), ist leicht begreiflich, und auch in der mikroskopischen Fauna findet zu solchen Zeiten eine tiefgreifende Umwandelung statt. Besonders gewisse Infusorienarten vermehren sich dann außerordentlich, so daß ein dahingestelltes Glas Grabenwasser sich an der Oberfläche bald mit einer geschlossenen Schicht dieser Sauerstoff bedürftigen Tiere bedeckt[4]).

Was die Natur nun bisweilen in großem Maßstabe zu sehen giebt, kann im Laboratorium sehr leicht und rasch im Kleinen nachgeahmt werden, und zwar durch sehr lehrreiche Versuche, welche wie folgt anzustellen sind:

Besonders in den Monaten Juli, August und September ist das Grabenwasser sehr reich an Sulfidfermenten, später im Jahre wird es daran ärmer oder selbst ganz frei davon. Im Grabenschlamme fehlen die Sulfidbakterien nach meiner Erfahrung dagegen nimmer, so daß nicht zu kleine Prisen schwarzen Schlammes unserer Binnenwässer ein unfehlbares Infektionsmaterial für die Einleitung der Reduktionsversuche sind. In Gartenerde konnten Sulfidfermente auf einer Tiefe

---

1) Diese Lösung enthält 2,48 g Thiosulfat ($Na^2S^2O^3 + 5H^2O$) pro Liter.

2) Unter „Rohkultur des Sulfidfermentes" verstehe ich das Bakteriengemisch, wie es in den natürlichen Gewässern angetroffen wird, worin jedoch dem Sulfidfermente die notwendigen Bedingungen zu seiner Entwickelung erfolgreich dargeboten sind.

3) Das Volk sagt in solchen Fällen: „das Wasser ist schlecht". Durch zahlreiche Sauerstoffbestimmungen nach Winkler's Methode (Ber. der deutsch. chem. Ges. Jahrg. XXI. 1888. p. 2843) habe ich die hier ausgesprochene Ansicht gewonnen.

4) Die in solchem Wasser massenhaft vorkommenden Infusorien suchen nicht die höchste, sondern eine bestimmte niedrige Konzentration des gelösten Sauerstoffes, sie gehören in dieser Beziehung also zum „Spirillentypus".

von 5 cm angezeigt werden, größere Tiefen untersuchte ich nicht. Wahrscheinlich kommen sie aber auch tiefer im Boden vor.

In den genannten Monaten braucht man dem Wasser oft nur eine sehr geringe Menge organischer Stoffe hinzuzufügen, um vollständige Sulfatreduktionen hervorzurufen, und zwar im Verlaufe von 12—24 Stunden bei 25—30° C. Hierbei müssen besonders die drei folgenden Umstände beachtet werden: Der Sauerstoffzutritt muß ausgeschlossen sein; — die organischen Körper dürfen zu keiner Säurebildung Veranlassung geben, daher müssen Zuckerarten entweder ferngehalten oder nur in so kleinen Quantitäten zugesetzt werden, daß die Wasserbakterien schnell die Zersetzung zu Kohlensäure und Wasser herbeiführen; — Phosphate und andere salzige Körper müssen vorhanden sein; — Stickstoffverbindungen brauchen nur dann zugesetzt zu werden, wenn es sich um die Reduktion von mehr als 60 mg SO^3 pro Liter Wasser handelt, anderenfalls enthält Leitungs- und Grabenwasser genug natürliche Stickstoffverbindungen, um das Bedürfnis der Sulfidmikrobien zu decken. Hierbei muß noch speziell bemerkt werden, daß destilliertes Wasser bei jeder bisher zur Verwendung gekommenen Zufügung sich immer als viel weniger gut für Sulfatreduktionen gezeigt hat, wie rohes Wasser, auch nach dem Kochen des letzteren. Beim Anfange der Versuche, wenn es sich darum handelt, ein an Sulfidfermenten reiches Infektionsmaterial zu bekommen, ist man immerhin auf gewöhnliches rohes Grabenwasser angewiesen, da das Ferment außerhalb desselben jedenfalls viel seltener ist. Niemals brachten die Wände der Gefäße, oder der Staub der Tische, oder die Luft Sulfidbakterien an [1]).

Die Sulfatreduktion findet am besten statt in sehr verdünnten Nährlösungen. Da das Sulfidferment Gelatine nicht verflüssigt und keine Säure erzeugt, welche Agar vielleicht angreifen könnte, sind sowohl Gelatine wie Agar in den festen Nährböden an sich nicht schädlich für die Reduktion. Uebrigens ist das Ferment auch nicht in dem Maße empfindlich für gelöste organische Körper, wie das Nitritferment der Ammonsalze, welches zwar bei Gegenwart von lange in destilliertem Wasser ausgewaschenem Agar kräftig nitrifiziert, dieses jedoch auf Gelatine, auch wenn diese mit größter Sorgfalt von den löslichen organischen Körpern gereinigt ist, nur ganz schwach und auch nur sehr kurz thut [2]). Für das Sulfidferment ist bemerkenswert, daß die Endprodukte des Bakterienlebens dafür nicht nur nicht schädlich sind, sondern eben die Entwickelung desselben begünstigen, worauf vielleicht der früher genannte günstige Einfluß des Grabenwassers beruht. Jedenfalls gelingen die Kulturen des Fermentes bei Gegenwart anderer Bakterien viel besser, wie in den Reinkulturen.

In Uebereinstimmung mit letzteren Bemerkungen können Flüssigkeiten, worin ein kräftiger Reduktionsvorgang stattfindet, sehr klar aussehen. Nur zu Boden derselben liegt der anorganische Schlamm, welcher unter dem Einflusse des Natriumkarbonates entstanden ist.

---

1) Das Sulfidferment stirbt also wahrscheinlich beim Trocknen.

2) Eine deutliche Verflüssigung der Gelatine findet durch das Nitritferment der Ammonsalze nicht statt.

Dieser Schlamm darf niemals fehlen und bildet die Lagerstätte, worin die Sulfidfermente sich leicht ein zusprechendes anaërobies Medium schaffen können. Bei meinen Versuchen besteht der Schlamm hauptsächlich aus Calciumphosphat und -Karbonat mit aus dem Grabenwasser stammenden organischen Teilchen. Auch Eisenphosphat und -karbonat sind sehr geeignet, dem Fermente als Substrat zu dienen. In eisenhaltigem Schlamme sieht man die sich durch Schwärzung anzeigende Reduktion oft von einem kleinen engumschriebenen Flecken ausgehen, welcher sich allmählich ausdehnt, bis schließlich die ganze Schlammschicht tief schwarz ist. Es ist dieses besonders deshalb bemerkenswert, weil das Sulfidferment in schnell beweglichem Zustande vorkommen kann, so daß geschlossen werden muß, daß diese Beweglichkeit nur ausnahmsweise eintritt. Doch habe ich gefunden, daß es eine ziemlich allgemeine Regel ist, daß bewegliche Bakterien, unter guten Ernährungsbedingungen, in vollständiger Ruhe sind.

Die Anhäufung des Sulfidferments in einem anorganischen Schlamme erinnert lebhaft an das analoge Verhalten bei der Nitrifikation, doch existiert hier der große Unterschied, daß der Kreideschlamm, worin sich das Nitritferment ansiedelt, sauerstoffgesättigt sein muß, während das Sulfidferment vollständige Abwesenheit des Sauerstoffes erfordert.

Die Herstellung von Flüssigkeiten, worin bestimmte Sulfatmengen zum vollständigen Schwinden gebracht werden konnten unter Bildung von Schwefelwasserstoff, ist mir auf sehr verschiedene Weise gelungen. Das einfachste Rezept, welches zwar nicht immer, jedoch gewöhnlich zum Ziele führt, ist wohl folgendes:

Zu 1 l Grabenwasser setzt man 3 cm^3 einer Malzwürze von ca. 10° Balling, 1 g krystallisiertes Natriumkarbonat ($Na^2CO^3 + 10 H^2O$) und 0,2 g Mohrsalz ($FeSO^4 + (NH^4)^2SO^4 + 6H^2O$). Es entsteht ein sich langsam absetzendes Präzipitat von Calcium- und Ferrophosphat und -karbonat. Ist der Schwefelsäuregehalt des Grabenwassers 40 mg pro Liter, so enthält die Lösung $40 + 81{,}6 = 121{,}6$ mg, wovon durch die 28 mg hinzugesetztes Eisen 66 mg als Schwefeleisen gebunden werden können, während 55,6 mg als Calciumsulfid oder auf andere Weise in die Erscheinung treten werden, sobald die Reduktion vollständig ist. Man schüttelt tüchtig, so daß der Niederschlag sich gleichmäßig verteilt, und füllt nun mit der fertigen Masse eine Flasche gänzlich bis zum Stöpsel oder einfach ein großes Becherglas, welches derweise mit einer ebenen Glasplatte abgeschlossen wird, daß keine großen Luftblasen hängen bleiben. Man stellt nun in den Brutschrank, und zwar bei einer Temperatur, welche 25—30° C nicht überschreiten soll. Zwar kann die Reduktion auch bei höheren Temperaturen und noch bis ca. 40° C stattfinden, doch liegt das Optimum des Reduktionsvorganges nicht weit von 25° C und eher darunter. In denjenigen Fällen, wobei man mit höheren Temperaturen wie 25—30° C besser auskommt, muß die Ursache gesucht werden in der Natur der neben dem Sulfidfermente vorkommenden anderweitigen Bakterienarten, welche besonders durch ihr Sauerstoffbedürf-

nis und unter Umständen durch Alkali- oder Säurebildung einen erheblichen Einfluß auf den Reduktionsvorgang ausüben. Was die untere Grenze der Reduktionstemperatur betrifft, so finde ich, daß, wenigstens in den Rohkulturen, zwar bis zu 12° C Reduktion möglich ist, daß jedoch der Vorgang unterhalb 20° C so unsicher wird und so oft ganz ausbleibt, daß man besser thut, die Temperatur nicht unter 20° C sinken zu lassen.

Bei dem hier behandelten Versuche wurde mit 2 l Flüssigkeit experimentiert in einer mit Glasstöpsel verschlossenen und vollständig angefüllten Flasche. Es wurde jeden Tag 25 cm³ Flüssigkeit titriert und die Flasche wieder gänzlich angefüllt mit dem ursprünglichen Gemische.

Den Verlauf der Reduktion ersieht man aus folgender Tabelle:

Nach Tagen	Kubikcentimeter Normaljodlösung pro Liter	Entsprechend. Schwefelwasserstoff mg pro Liter [1])	Entsprechende Schwefelsäure mg pro Liter [2])	Bemerkungen
2	0,75	12,75	30	
3	1,5	25,5	60	
4	1,9	32,3	76	
5	2,1	35	84	**Keine Schwefelsäure mehr.**
6	2,1	35	84	Spur Schwefelsäure.

Da bei diesem Versuche anfangs 121 mg SO^3 pro Liter gegenwärtig waren und hiervon 84 als Schwefelwasserstoff zurückgefunden wurden, während doch nach 5 Tagen die Flüssigkeit sich durch die Barytreaktion als vollständig frei von Schwefelsäure ergab, folgt, daß 121—84 = 37 mg SO^3 auf andere Weise verschwunden sind, entweder also als organisch festgelegter, oder als freier Schwefel, oder als ein anderes Reduktionsprodukt [3]).

Weil nach 6 Tagen wieder eine Spur Schwefelsäure gefunden wurde, folgt, daß die 25 cm³ frischer Versuchsflüssigkeit, welche am 5. Tage zugesetzt waren, in 24 Stunden noch nicht vollständig reduziert waren.

Bei einem anderen Versuche wurde die Versuchsflüssigkeit wie folgt hergestellt:

Grabenwasser wurde mit Gips ($CaSO^4 + 2H^2O$) gesättigt (ca. 2 g Gips lösen sich in 1 l Wasser). Die Lösung enthielt zufälligerweise genau 1000 mg SO^3 pro Liter. Pro Liter wurden zugesetzt 50 mg Natriummalat, 50 mg Asparagin, 100 mg Kaliumphosphat und 1 g Natriumkarbonat; keine Eisensalze.

Der Verlauf der Reduktion war folgender:

1) Ein Kubikcentimeter Normaljodlösung entspricht 17 mg Schwefelwasserstoff.

2) Ein Kubikcentimeter Normaljod entspricht 40 mg SO^3.

3) Mehrere auch mit ganz anderen Nährstoffen und sehr verschiedenen SO^3-Mengen ausgeführte Versuche gaben ein mit diesem so gut übereinstimmendes Resultat, daß ich anfangs glaubte, eine Methode zur quantitativen Schwefelsäurebestimmung wäre gefunden. Spätere Versuche haben aber gezeigt, daß große, noch nicht aufgeklärte Abweichungen vorkommen, so daß jede Sicherheit vorläufig fehlt.

Nach Tagen	Kubikcentim. Normaljod pro Liter	Milligramm Schwefelwasserstoff pro Liter	Milligramm SO^3 pro Liter	Bemerkungen
6	1,5	25,5	60	
11	2	34	80	
13	2,5	42,5	100	
15	2,9	49,3	116	Etwas Schwefel abgesetzt.
16	3	51	120	
18	3,5	59,5	140	
20	3,5	59,5	140	
21	3,1	52,7	124	Luft zugetreten, Schwefel abgesetzt.

Eine gesättigte Gipslösung mit der notwendigen organischen Nahrung ergiebt sich demnach als geeignete Flüssigkeit für Reduktionsversuche. Jedoch war die Reduktion in diesem Falle langsam gegangen und von den 1000 mg SO^3 waren nur 124 reduziert. Als neue Nährflüssigkeit zugesetzt wurde, wurde aus unbekannten Gründen keine weitere Reduktion beobachtet. Daß dieses nicht in der Anhäufung des Schwefelwasserstoffes liegt, erhellt aus folgendem Versuche:

Zu Grabenwasser mit 37,5 mg SO^3 pro Liter wurden zugesetzt pro Liter 130,6 mg Mohrsalz ($FeSO^4 + (NH^4)^2SO^4 + 6\ H^2O$), enthaltend 53,3 mg SO^3, 492,6 mg $MgSO^4 + 7\ H^2O$, enthaltend 160 mg SO^3, 100 mg ClNa, 100 mg Natriummalat, 100 mg Asparagin, 200 mg Kaliumphosphat und 1 g Natriumkarbonat. Die Flüssigkeit enthielt also im ganzen $37{,}5 + 53{,}3 + 160 = 250{,}8$ mg SO^3 pro Liter [1]).

Die sehr kräftige Reduktion verlief wie folgt:

Nach Tagen	Kubikcentim. Normaljod pro Liter	Entsprechend mg H^2S pro Liter	Entsprechend mg SO^3 pro Liter	Bemerkungen
3	1,6	27,2	64	Ganze Flüssigkeit schwarz
4	2	34	80	Das Schwefeleisen sinkt
5	2,3	39,1	92	Flüssigkeit klar
6	2,8	47,6	112	
7	3,4	57,8	136	Etwas Schwefel am Glase abgesetzt
8	3,6	61,2	144	
9	3,7	62,9	148	
15	4,1	69,7	164	Schwefelsäure verschwunden
20	3	51	120	Luft zugetreten, viel Schwefel.

Von den 250,8 mg SO^3, welche ursprünglich vorhanden waren, sind 164 in Schwefelwasserstoff verwandelt und 86,8 mg auf andere Weise, offenbar teilweise als Schwefel, verschwunden.

1) Hier war, wie man sieht, Kochsalz zugesetzt. Neuere Versuche erweisen, daß 3 Proz. Kochsalz in meinen früher verwendeten Rohkulturen den Beginn der Reduktion durch Spirillum desulfuricans zwar verzögert, den Vorgang selbst von da an jedoch eher begünstigt wie herabsetzt.

Da ich bisher bei keinem Versuche eine stärkere Schwefelwasserstoffanhäufung erzielen konnte wie hier, dürften ca. 70 mg H^2S pro Liter die Schwefelwasserstoffgrenze sein, oberhalb welcher dieser Körper auf das Sulfidferment schädlich zu wirken anfängt. Da 1 cm^3 Schwefelwasserstoffgas 1,5 mg wiegt, entspricht diese Zahl 46 cm^3 pro Liter [1]).

Die kleine Menge Schwefelsäure, welche im Delfter Grabenwasser vorhanden ist, läßt sich übrigens leicht und schnell reduzieren, wenn man diesem Wasser irgend einen organischen Nährstoff, wie Zucker, Stärke, Glycerin, Asparagin, Lactat, Tartrat oder Pepton und etwas Kaliumphosphat, Eisenchlorid und Natriumkarbonat zusetzt. Von organischen Stoffen ergaben sich nur Natriumbutyrat, -acetat und -formiat als ungeeignet, um die Reduktion einzuleiten. Ein Beispiel:

Grabenwasser mit 45 mg SO^3 pro Liter wurde versetzt pro Liter mit 50 mg Glukose, 100 mg Kaliumphosphat, einigen Tropfen Eisenchloridlösung, 0,5 g Natriumkarbonat. Die Reduktion verlief, unter Einfluß einer Infektion mit dem Schlamme einer vorhergehenden Reduktion, wie folgt:

Nach Stunden	Kubikcentim. Normaljod pro Liter	Milligramm H^2S pro Liter	Milligramm SO^3 pro Liter	Bemerkungen
12	0,2	3,4	8	Schwarzfärbung der Flüssigkeit
18	0,4	6,8	16	
24	0,5	8,5	20	
36	0,6	11,2	24	**Schwefelsäure verschwunden**
48	0,5			Wieder etwas Schwefelsäure

In diesem Falle waren also von den 45 mg SO^3 24 als Schwefelwasserstoff, 21 auf andere Weise verschwunden.

Wenn der Glukosegehalt höher genommen wird, so muß man befürchten, daß Buttersäuregärung auftritt infolge der großen Allgemeinheit der Granulobakterien im Grabenwasser. Als ich z. B. 100 mg Glukose oder mehr pro Liter verwendete, war das der unvermeidliche Erfolg, dadurch wird aber die Reduktion zunächst gründlich verhindert und in solcher Lösung findet dann erst nach Wochen oder Monaten die Reduktion statt, wenn die Butyrate und die massenhaft gebildete Kohlensäure verschwunden sind.

Es scheint mir nicht notwendig, noch mehr Versuche zu beschreiben. Die angeführten wurden gewählt aus einer längeren Reihe, welche während der Jahre 1893 und 1894 ausgeführt sind [2]). Ich will allein noch bemerken, daß es ganz gleichgiltig ist, welches Sulfat (natürlich soweit nicht giftig) vorgelegt wird. Natriumsulfat,

---

1) Herr Bakhuis Roozeboom hat mich darauf aumerksam gemacht, daß er in einem Muster mit organischen Körpern verunreinigten Meerwassers, welches in einer geschlossenen Flasche, auf dessen Boden etwas Thon lag, aufbewahrt wurde, einmal 151 mg H^2S pro Liter gefunden hat, welches durch natürliche Sulfatreduktion entstanden sein mußte.

2) Die ursprüngliche Anleitung zu diesen Versuchen war eine rein praktische: Es handelte sich um die Herstellung eines vollständig gipsfreien Dampfkesselspeisewassers aus Grabenwasser auf ökonomischem Wege.

Kaliumsulfat und Alaun konnten bei genügender Verdünnung ebenso gut reduziert werden, wie Eisensulfat, Mohrsalz, Magnesiumsulfat und Gips. Offenbar handelt es sich hierbei nur um die SO^4-Gruppe, welche als Jod in der Flüssigkeit vorkommt[1]).

6. Isolierung und Eigenschaften des Sulfidfermentes.

Die Isolierung des Sulfidfermentes hat mir viel Mühe gekostet. Nicht weil die Sache an sich so besonders schwierig ist, wenn man die Eigenschaften dieser Mikrobie einmal kennt, sondern weil ich ursprünglich von der unrichtigen Voraussetzung ausging, daß die gewöhnlichen reduzierenden Bakterien aus dem Wasser und der Erde auch Sulfate würden reduzieren können[2]).

Als ich durch viele negative Versuche schließlich wußte, daß die Voraussetzung nicht zutreffend war und es sich hierbei um einen speziellen Erreger handeln mußte, welcher Spirillengestalt besitzt, verfiel ich in einen anderen Irrtum. Da ich in zahlreichen Kulturen, besonders in festen Substraten gesehen hatte, daß die Sulfatreduktion durch den Sauerstoff begünstigt werden kann, meinte ich, daß dieses immer so sein müßte und daß das Sulfidferment, eben wie die übrigen mir bekannten Spirillen, für sein Wachstum zwar wenig, jedoch ein bestimmtes Maß von Sauerstoff erfordert.

Indem es mir nun gelang, durch das gewöhnliche Gelatineverfahren drei Varietäten kleiner Wasserspirillen, welche ich als zu Spirillum tenue Cohn gehörig erachte, aus meinen Rohreduktionen zu isolieren, vermeinte ich jedesmal das richtige Ferment gefunden zu haben, und da es mir besonders im Anfange nicht leicht war mit Sicherheit festzustellen, ob eine bestimmte Bakterienart unter keinem Umstande Sulfate zu reduzieren vermag, waren wieder viele zeitraubende Versuche nötig, um den negativen Charakter bezüglich der Sulfatreduktion bei jenen Spirillen festzustellen. Ueberhaupt ist die Untersuchung auch noch durch andere Ursachen reich an Mißerfolgen gewesen.

Ein Schritt auf den richtigen Weg war die Erkenntnis, daß der begünstigende Einfluß des Sauerstoffes auf das Sulfidferment an sich nicht besteht, sondern daß es sich dabei um eine Wachstumsförderung der nebenbei vorkommenden Bakterien handelt, welche eben

---

1) Auf Grund der neuen Lösungstheorie wäre es deshalb auch eigentlich richtiger, in den Resultaten der Analysen nicht SO^3-, sondern SO^4-Gehalte anzugeben.

2) Ein hübscher Versuch, um Nitrat-reduzierende Bakterien aus Rohkulturen zu isolieren, ist folgender: Man versetzt die zu verwendende Nährgelatine mit $^1/_{10}$ Proz. Kalisalpeter und etwas Kartoffelstärke, kocht und gießt die flüssige Masse in eine Glasdose. Nach dem Erstarren wird mit sterilisiertem Wasser, worin die bakterienhaltige Rohkultur (ein Tropfen Spüljauche, etwas Grabenwasser etc.) verteilt ist, übergossen. Man legt die Glasdose umgekehrt, wodurch alles Wasser abläuft, und läſst bei 20 ° C wachsen. Wenn die Kolonieen gut entwickelt sind, übergieſst man die Hälfte der Platte mit verdünnter Salzsäure, worin Jodkalium gelöst ist. Alle Kolonieen, welche Salpeter reduziert haben und dadurch von einem Diffusionsfelde von Kaliumnitrit umgeben sind, werden dann das Centrum eines intensiv blauen Zirkelfeldes von Jodstärke auf farblosem Boden. Die mit Salzsäure übergossenen Bakterien sterben. Durch Vergleich sieht man aber bald auf der nicht übergossenen Hälfte, welche die reduzierenden Arten sind, und hebt diese auf für weitere Untersuchung. Die Zahl der Salpeter-reduzierenden Arten ist in Grabenwasser überraschend groß.

durch ihre Entwickelung den Boden für das Sulfidferment besser geeignet machen.

Es wurde mir dann deutlich, daß das Ferment, obwohl ein Spirill, dennoch obligat anaërobisch sein mußte und nur bei relativ geringen Mengen organischer löslicher Nährstoffe zur Entwickelung kommt, weshalb die Reduktionserscheinung besonders in alten, von Bakterien erschöpften Nährlösungen bemerkt wird. (Schluß folgt.)

Ueber den Einfluss von Kupfervitriol auf die Vergärung von Traubenmost durch Saccharomyces ellipsoïdeus.

[Aus der pflanzenphysiologischen Versuchsstation der königl. Lehranstalt zu Geisenheim a. Rhein.]

Von

Dr. **Friedr. Krüger**

in

Berlin.

(Schluß.)

Sobald die Gärung eingetreten war, fand wiederum täglich um dieselbe Zeit die Wägung der einzelnen Gefäße statt. Die Menge der innerhalb 24 Stunden produzierten Kohlensäure ergab dann unmittelbar die Unterschiede der Gärintensität in den einzelnen Gefäßen. Eine Zusammenstellung der Ergebnisse, also wiederum die Menge der produzierten Kohlensäure in Grammen ausgedrückt, liefert die folgende Tabelle (p. 60).

Aus dieser Zusammenstellung ist nun zunächst ersichtlich, daß nach Beendigung des Gärprozesses die Gesamtmenge der produzierten Kohlensäure mit Ausnahme derjenigen in Most 1 und 2, in den gekupferten Mostproben und dem normalen Most ohne Kupferzusatz annähernd die gleiche ist, daß also durch einen Kupferzusatz von 0,00440 Proz. bis 0,000449 Proz. eine Beeinflussung der Gesamtumsetzung von Zucker in Alkohol und Kohlensäure nicht mehr stattgefunden hatte. In Gefäß 8, in dem der Most in normaler Weise vergoren war, betrug das Gewicht der entwichenen Kohlensäure 42,48 g [1]), und fast dieselbe Menge war auch in dem Most entwickelt, der einen Kupfergehalt von 0,0044 Proz., von 0,00355 Proz., von 0,001779 Proz., 0,001186 Proz. und 0,000449 Proz. hatte.

Geringer war dagegen die gesamte Kohlensäureproduktion in Gefäß 1 und 2, also bei demjenigen Most, der einen Kupfervitriolgehalt von 0,01856 Proz. und 0,00929 Proz. hatte. Hier waren nur 19,83, resp. 39,08 g Kohlensäure produziert. Die Gärung war also hier

1) Da der Anstaltsmost 17,53 Proz. Zucker enthielt, so mußten aus 500 ccm desselben theoretisch 42,85 g gebildet werden.

Tabelle C.

Johannisberger Schloßhefe									Temperatur [1])			
									Maximum		Minimum	
Datum	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	Tag	Nacht	Tag	Nacht
12. Februar	1,80	3.20	1,65	1,57	2,65	2,80	3,22	1,85	21,0	22	18,25	18 5
13. „	3.49	6,60	5,23	3,97	5,21	8,15	7,75	1,55	21,25	21,25	19 25	16 50
14. „	2,88	4,83	4,39	3,58	4.90	7.55	7,35	3.40	21.00	20,25	18,50	18,00
15. „	2,26	3,48	3.31	2,98	4,13	5,27	5,10	3,95	20,75	21,75	19,75	16,75
16. „	2,17	3,09	3,09	2,76	4,01	4.51	4.50	2,00	21,00	21,75	18,50	17.5
17. „	1,60	2,47	2,68	2,60	3.67	3.35	3,18	2,40	18,00	21.00	15,50	18,50
18. „	1,06	1,95	2,15	2,35	2,44	2,02	2,02	1,85	15,50	21,00	15,00	18,50
19. „	1,26	1,78	2,32	2.08	2,44	2,10	1,75	2,20	19,75	28,50	14,5	17,75
20. „	1,23	2,30	2,95	2,59	3,04	2,53	2,17	4,26	25,50	27,50	11,5	19,0
21. „	0.90	1,70	1,75	2,10	2,66	1,35	1,20	2,60	20,25	21,00	18.0	16,5
22. „	0,45	1,05	1,26	1,48	1,09	0,74	0,71	1,44	18.75	18,75	16 50	15,50
23. „	0,25	0,80	0,95	1,15	1,09	0,39	0,42	1,10	17,75	18,00	15,00	15,50
24. „	0,07	0,50	0,82	0,96	0,57	0,17	0,17	0,91	19,00	19,50	16,00	15,50
25. „	0,25	0,90	1,00	1,08	0,85	0,48	0.43	1,40	19.50	21,00	17.00	16.00
26. „	0,11	0,80	0.96	1,02	0,62	0,36	0,20	1,20	20,25	20,00	16,50	17,50
27. „	0,02	0,48	0.62	0,87	0,38	0,16	0,37	0,92	19,75	20,00	16,75	16,50
28. „	0	0.55	0,87	0,90	0,48	0,17	0,20	1,11	18,50	19,25	16,75	15,5
1. März	0,03	0,70	0,82	0,92	0,57	0,47	0,26	1,06	23,25	20,00	17.50	16,50
2. „	0	0,24	0,27	0,33	0,10	0,09	0,14	0,48	21,75	20,25	16,50	15,75
3. „		0,34	0,33	0,46	0,53	0,02	0,04	0,57	21,50	22,00	18,00	16,50
4. „		0,31	0,40	0,40	0,10	0	0	0 95	19,50	18,75	17,50	15.00
5. „		0,20	0,38	0,39	0,77			0,48	16,50	16,50	14.50	14,50
7. „		0,79	1,00	0,88	0,01			1,03	19,5	19,00	.7 00	18,50
									20,25	20,00	15,50	16,50
9. „		0,02	0,45	0,63	0,04			0,18	19,25	19,00	16.50	16,50
									20,50	20,00	16,50	16,50
11.[2]) „		0	0,49	0,41	0			0,63	19,00	19,00	16,00	16,5
									19.00	18,75	15,50	16,0
Produzierte Gesamtmengen	19,83	39,08	41,86	42,49	42,35	42,68	41,18	42,48				

in Folge des relativ hohen Kupfergehaltes eine unvollständige geblieben, was sich auch noch dadurch bemerkbar machte, daß im Gefäß 1, das den höchsten Gehalt hatte, die Gärung wesentlich früher als in den übrigen aufhörte.

Anders verhielten sich die verschiedenen Moste unter einander innerhalb der einzelnen Tage, während welcher sich die Gärung vollzog. Wiederum produzierte derjenige in No. 1 — allerdings unaufgeklärter Weise mit Ausnahme des zweiten Tages — stets weniger Kohlensäure, als die übrigen Moste, sowohl die gekupferten, wie auch

1) Leider gestatteten die Verhältnisse nicht, die Gefäße einer konstanten Temperatur auszusetzen. Die Schwankungen in der Temperatur machen sich in den erzeugten Kohlensäure(CO_2)-Mengen deutlich bemerkbar. Dasselbe ist auch bei Tabelle A und B der Fall. Wo zwei Zahlen in der betreffenden Abteilung stehen, bezieht sich die erstere auf die Temperatur des Tages, an dem keine Wägung vorgenommen wurde.

2) Vom 11. März an wurden die Wägungen der drei noch nicht völlig ausgegorenen Flaschen nicht mehr regelmäßig vorgenommen. Sie wurden dann nach etwa 6 Tagen noch einmal gewogen, und durch Wägungen an den darauf folgenden Tagen wurde dann festgestellt, daß die Gärung nunmehr beendigt war.

der ungekupferte. Also auch in dieser Beziehung machte sich die unvollkommene und nachteilig beeinflußte Gärung bemerkbar. In den übrigen Gefäßen aber, No. II—VII, war innerhalb der ersten 7 bis 8 Tage die Gärung lebhafter als in No. VIII, das ungekupferten Most enthielt. Dann ließ in den Gefäßen II—VII die Gärung allmählich nach, wohingegen nun der ungekupferte Most in VIII, dessen Gärungsintensität nur allmählich angestiegen war, und später ebenso allmählich wieder abnahm, bei der täglichen Kohlensäureproduktion ins Uebergewicht kam. Allerdings war ja auch während der erwähnten 7—8 Tage regellos in vereinzelten Fällen die Gärungsintensität der gekupferten Moste etwas schwächer als die der kupferfreien, aber im allgemeinen war doch überall eine beschleunigende und anregende Wirkung durch den Kupfergehalt zu konstatieren.

Diese Anregung innerhalb der ersten Tage der Vergärung hatte also noch bei einem Kupfersulfatgehalt von 0,00929 Proz. stattgefunden, während ein solcher von 0,01856 Proz. schon entschieden verzögernd und hemmend gewirkt hatte. Zwischen diesen beiden Werten muß demnach — eine derartige Kombination des Versuches vorausgesetzt, da ja auch z. B. auf die Menge der Hefezellen im Verhältnis zum Kupfervitriol viel ankommt[1]) — die Grenze derjenigen Menge von Kupfervitriol liegen, die ein Most enthalten darf, ohne daß dadurch eine schädigende Wirkung stattfindet.

Ein Vergleich der Resultate dieser Untersuchungen mit den Ergebnissen, die Rommier und Pichi erhalten haben, lehrt, daß Rommier mit den meinigen nicht in Widerspruch steht, daß aber Pichi's Angabe, 0,015 Proz. Kupfersalz thäte noch keinen Schaden, sich mit den Resultaten Rommier's und den meinigen durchaus nicht deckt. Da indessen nach den Biernacki'schen Untersuchungen das relative Verhältnis zwischen der Menge der zugesetzten Hefezellen und dem Gehalt des Mostes an antiseptischen Stoffen von wesentlicher Bedeutung für die Vergärung ist, und da doch die verschiedenen Autoren nicht gleich große Hefemengen zu ihren Versuchen benutzten, so dürfte eine solche vergleichende Betrachtung ziemlich wertlos sein. Dazu kommt dann ja auch ferner noch, daß bei den genannten beiden Autoren ein unbeachtet gebliebener Verlust von einem Teil des Kupfers infolge von Bildung des früher erwähnten grünen Salzes nicht zu den Unmöglichkeiten gehört.

Mit Ausnahme des stärkst gekupferten Mostes war also die Gärung im Anfange des Versuches im kupferhaltigen Moste intensiver als im ungekupferten, und zwar scheint, wie aus obiger Tabelle ebenfalls hervorgeht, das Optimum bei einem Gehalte von etwa 0,001186 Proz. Kupfersalz zu liegen. In den ersten Tagen des Versuches wurde bei diesem Gehalte die größte Menge Kohlensäure produziert, vom 6. bis zum 10. Tage lag dann das Maximum bei einem Gehalte von 0,00177 Proz., um schließlich auf den Most von 0,0035 Proz. überzugehen. Später kam dann der ungekupferte Most ins Uebergewicht.

---

1) Vergl. Biernacki l. c.

Diese Wanderung des Gärungsmaximums von dem einen auf den nächst höher gekupferten Most fand also, ähnlich wie bei den früher beschriebenen Versuchen, auch hier statt, und läßt sich wohl hier wie dort in einfacher Weise erklären, indem in dem schwächer gekupferten Moste die Gärung früher begann und durch den sich stetig steigernden Alkoholgehalt und die Abnahme vergärbaren Zuckers bald das Maximum erreichen mußte. Und daß der höher gekupferte Most später und — anfänglich wenigstens — auch schwächer in Gärung trat, ist nur natürlich, da es einer längeren Zeit bedurfte, ehe solche Mengen des Kupfersalzes in unlösliche Form gebracht waren, daß die noch im Moste gelöst enthaltenen Kupferverbindungen den begünstigenden Einfluß ausüben konnten. Auch mag in dem früher in Gärung getretenen Moste bei der fortschreitenden Alkoholproduktion eine stets größere Menge des Kupfersalzes in unlöslicher Form abgeschieden und somit der Most eines die Gärung anregenden Faktors immer mehr beraubt worden sein. Diejenige Konzentration also, die für die Gärung anfänglich die günstigste war, wird allmählich immer schwächer und damit auch weniger begünstigend, während die nächst höhere Konzentration durch denselben Vorgang nach und nach so abgeschwächt wird, daß sie die für die Vergärung günstigste Kupfermenge in Lösung enthält.

Als die Vergärung der Moste beendet war, wurde nach den üblichen Methoden eine chemische Analyse der erzeugten Weine vorgenommen.

Da der ursprünglich verwendete Most in allen Fällen der gleiche war, und da, mit Ausnahme des Kupferzusatzes, alle Bedingungen übereinstimmten, unter denen die Vergärungen stattgefunden hatten, so mußten die erhaltenen Produkte, vorausgesetzt, daß die Gärung vollständig und normal verlaufen war, annähernd die gleichen sein.

Die Ergebnisse dieser Untersuchung sind nachstehend für je 100 ccm Wein angegeben.

Tabelle D.

No.	Alkohol	Säure	Extrakt	Asche	Glycerin	Zucker
I	3,93	0,9279	—	0,1861	0,338	6,520
II	8,14	0,9581	3,8032	0,2008	0,757	1,169
III	8,77	0,9620	3,9021	0,2350	—	0,2545
IV	8,65	0,9582	3,6689	0,2316	—	0,3715
V	8,49	0,9581	3,3740	0,2200	0,735	0,3514
VI	8,92	0,9393	3,4778	0,2120	0,718	0,2930
VII	8,70	0,9581	3,2646	0,2070	0,7255	0,2590
VIII	8,735	0,9469	3,4210	0,2273	—	0,3880

Die Tabelle weist unter den gefundenen Bestandteilen kleine Differenzen auf, die vielleicht in der anfänglich schnelleren oder langsameren Vergärung der in verschiedenem Grade gekupferten Mostproben ihren Grund haben. Um aus diesen Einzelheiten zuverlässige wissenschaftliche Schlüsse zu ziehen, hätte es mehrfacher Wiederholung der Gärversuche und der Analysen bedurft, was aber aus anderen Gründen nicht auszuführen war. Jedenfalls wird aber

auch durch diese Analyse bestätigt, was schon aus der Gesamtkohlensäuremenge von Flasche 1 und 2 hervorging, daß nämlich in Gefäß 1 die Vergärung eine sehr unvollständige war, und daß auch diejenige in Gefäß 2 nur mangelhaft stattgefunden hatte. Alkohol-, Extrakt-, Zucker- und bei No. 1 auch der Glyceringehalt bewiesen das deutlich.

Die bei den quantitativen chemischen Bestimmungen erhaltenen Aschen benutzte ich dann noch zu einer Prüfung auf etwaige Anwesenheit von Kupfer.

In seiner schon erwähnten Abhandlung [1]) stellt Tschirch die hierauf bezüglichen Ansichten einer großen Anzahl von Autoren zusammen. Die Einen geben an, daß die aus gekupferten Trauben resp. Most stammenden Weine kupferhaltig seien, während wiederum andere teils aus theoretischen Gründen die Anwesenheit desselben verneinen, teils dasselbe auch bei der Analyse thatsächlich nicht haben konstatieren können.

Ich hob deshalb nach dem Absetzen der Flüssigkeit diejenigen Weinmengen, die zur Veraschung verwendet werden sollten, möglichst vorsichtig mit einer Pipette ab, ohne den Bodensatz aufzurühren. Der durch Einäschern derselben gewonnene Rückstand war schwach grünlich und färbte sich beim Behandeln mit Salpetersäure rötlich, um nach einigen Minuten eine wie von käsigen Ausscheidungen getrübte Flüssigkeit zu bilden. Diese Erscheinungen dürften vielleicht von Schwefelverbindungen veranlaßt sein. Zur Prüfung auf Kupfer wurde dann die salpetersaure Lösung der Aschen mit Natronlauge neutralisiert, und das Filtrat mit Essigsäure, und hierauf mit frisch bereiteter Ferrocyankaliumlösung versetzt, wodurch, wenn Kupfer vorhanden war, je nach der Menge desselben, eine rötlich-braune Farbe bis tief brauner Niederschlag von Ferrocyankupfer sich bilden mußte.

In meinen sämtlichen, aus den gekupferten Mosten entstandenen Weinen, die freilich naturgemäß jetzt noch trübe waren, ließ sich durch die erwähnte Reaktion Kupfer nachweisen, allerdings in Mengen, die in den mir noch zu Gebote stehenden Flüssigkeitsmengen quantitativ nicht mehr bestimmbar waren. Bei den Weinen aus Gefäß 6 und 7 mußten schon 100 resp. 120 ccm Flüssigkeit verdampft und eingeäschert werden, um überhaupt noch eine ganz schwache Bräunung in der durch Auflösung der Asche erhaltenen, etwa 5 ccm betragenden Flüssigkeit hervorzurufen. In den anderen Fällen genügten 50 ccm Wein, um in der Aschenauflösung noch eine deutliche Färbung von Ferrocyankupfer zu erzeugen. Die Asche des aus nicht gekupfertem Moste erhaltenen Weines erwies sich bei der Prüfung als kupferfrei.

Kupferreicher als die Aschen der eben erwähnten allerdings noch trüben Weine waren indessen die Glührückstände der im Laufe der Vergärung gebildeten Trubs. Die schon aus geringen Mengen derselben (inkl. der anhaftenden Flüssigkeit etwa 10—15 ccm) ge-

1) l. c. p. 53 u. ff.

wonnenen Aschen zeigten bei der in der oben erwähnten Weise angestellten Untersuchung mit Ferrocyankalium eine deutliche braunrote Färbung.

Mit der allgemeinen Annahme, daß die Hauptmenge des Kupfers bei der Gärung abgeschieden werde, stehen also diese meine Beobachtungen im Einklange.

Schließlich wurde nun auch die in den verschiedenen Gefäßen neu entstandene Hefe selbst noch einigen Prüfungen unterzogen. Wie schon Pichi, so konnte auch ich mikroskopisch keinen wesentlichen Unterschied zwischen den Hefen aus den ungekupferten und denjenigen aus den gekupferten Mosten konstatieren.

Ferner wurde die Gärkraft der infolge des verschiedenen Kupfergehaltes unter so ungleichen Lebensbedingungen gewachsenen Hefen untersucht. Es wurden zu diesem Zwecke je $^1/_2$ Million Zellen der verschiedenen Gefäße in je 50 ccm eines und desselben sizilianischen Mostes gethan und die einzelnen Mostgefäße dann unter den nämlichen Bedingungen sich selbst überlassen. In allen Fällen, selbst auch in demjenigen Kolben, der mit Hefe aus Gefäß 1 geimpft war, trat nach 3 Tagen deutliche Gärung ein, aber in dem Kolben mit Hefe aus Gefäß 1 nur ganz schwach, in demjenigen mit Hefe aus Gefäß 2 schon wesentlich stärker, während sie bei den mit den übrigen Hefen geimpften Mosten recht lebhaft war.

Um weiter zu untersuchen, ob die angenähert gleich große Aussaat von Hefezellen in allen Flaschen trotz der verschieden starken Kupferung des Mostes einen gleichen Ertrag von jungen Hefezellen geliefert hatte, trennte ich die in den einzelnen Flaschen befindlichen Weinreste durch Dekantieren oder durch Absaugen unter möglichster Vermeidung von Verlust von den Hefen, schwemmte darauf die Hefe mit Wasser zu 500 ccm auf und verdünnte nach kräftigem Schütteln 2 ccm dieser Aufschwemmung zu 100 ccm.

Nach der üblichen Methode wurde dann unter dem Mikroskope die Zählung der vorhandenen Zellen vorgenommen. Für jede der 8 Flaschen fanden 10 solcher Zählungen statt, und erst die Durchschnittszahl dieser 10 Werte galt als das Resultat für diese Flasche und wurde mit den Resultaten der übrigen Gefäße verglichen. Mit Ausnahme der Hefe aus Flasche 1 traten auch hierbei wesentliche Differenzen nicht hervor. In Gefäß 1, in dem sich also auch in dieser Beziehung die unvollständige Gärung bemerkbar machte, befanden sich durchschnittlich nur 28000 Zellen in 1 ccm der auf oben beschriebene Weise hergestellten Verdünnung, während sich in den anderen Flaschen durchschnittlich 31500—32000 Zellen pro ccm derselben Verdünnung gebildet hatten.

Durch die vorstehend beschriebenen Versuche ist nachgewiesen, daß Biernacki im Recht ist, wenn er behauptet, daß das Kupfer in geringen Mengen entschieden anregend auf die Gärung einwirkt. Ferner scheint nach den erhaltenen Resultaten die Grenze, bei der die Beeinträchtigung der Gärung durch Kupfer eintritt, für die einzelnen Mostsorten dadurch wesentlich verschieden zu werden, daß in den verschiedenen Mosten verschiedene Mengen von Kupfer infolge

des mehr oder weniger hohen Gehaltes an organischen Säuren schon bei Beginn der Gärung oder gar vor Eintritt derselben in eine unlösliche und dadurch unwirksame Verbindung eintreten. Aus letzterem Grunde ist ein etwaiger, von dem Bespritzen der Reben herrührender Kupfergehalt des Mostes ohne jede Bedeutung für den Wein.

November 1894.

Anlässlich Juhler's Mitteilung über einen saccharomycesbildenden Aspergillus.

Von

Prof. Dr. **Emil Chr. Hansen,**

Carlsberg Laboratorium, Kopenhagen.

Als einige meiner Kollegen mich zur Aeußerung betreffs der obenstehenden Frage aufforderten, habe ich mich zur Veröffentlichung der nachfolgenden Erläuterungen entschlossen. Von seinen Untersuchungen hat Herr John J. Juhler mir nicht viel mehr mitgeteilt, als in seiner kurzen Publikation (in dieser Zeitschr. S. 16) zu finden ist. Durch seine Versuche in Nordamerika mit einem nicht näher bezeichneten Aspergillus habe er die Beobachtung gemacht, daß derselbe Hefezellen mit Endosporen entwickele, später habe er diese Untersuchungen in Kopenhagen im Laboratorium des Herrn Direktor Alfred Jörgensen fortgesetzt. Als ich mich an ihn wandte, um eine Probe seines Aspergillus zur Nachprüfung zu bekommen, entschuldigte er sich: er wäre nicht in der Lage, meinen Wunsch erfüllen zu können. Mit Juhler's Zustimmung wird Jörgensen die Morphologie des Pilzes behandeln; eine anderweitige Verfügung über das Material hat er aber nicht, sonst würde er mir es gegeben haben. Diejenigen, welche es zu erhalten wünschen möchten, müssen sich deshalb direkt an Herrn John J. Juhler wenden. Während des Winters ist seine Adresse: Frederiksberg-Allée 8, Kopenhagen, danach Pomeroy, Ohio.

Gehen wir davon aus, daß die Untersuchungen Juhler's richtig sind, so ergiebt sich doch nicht ohne weiteres daraus, daß wir künftighin die Saccharomyceten als Entwickelungsformen der Aspergillen anzusehen haben. Die Mykologie ist reich an Beispielen von Formen, welche zu einer Zeit dieselben Merkmale darboten und dennoch bei späterer Prüfung, namentlich von neuen Gesichtspunkten aus, sich als wesentlich verschieden zeigten. Ebenso ist es ein nicht seltenes Vorkommen, daß Formen, welche wir, aller Analyse ungeachtet, als morphologisch gleichwertige erachten müssen, doch in ihrem Wesen, in ihrer Abstammung ganz verschieden sind und zu verschiedenen Abteilungen des Systems gehören. Um nur einige, in der Nähe liegende Beispiele zu nehmen, erinnere ich an die Hefevegetationen bei weit voneinander stehenden Pilzen, an Kernpilze, deren Perithecien denen des Eurotiums ähnlich sind, die aber

nicht zu den Aspergillen gerechnet werden können, da ihre Konidienform eine ganz andere ist.

Wünschen wir die Frage über die Abstammung der Saccharomyceten endgiltig zu lösen, so müssen wir mit den typischen Saccharomyces-Arten selbst experimentieren (z. B. Sacch. cerevisiae I, Sacch. Pastorianus I, Sacch. Pastorianus II, Sacch. Pastorianus III, Sacch. ellipsoideus I, Sacch. ellipsoideus II); ich nenne besonders diese, weil sie zu den am besten gekannten gehören, und weil sie sich in den meisten gärungsphysiologischen Laboratorien finden. Zeigt es sich nun, daß die typischen Saccharomyceten imstande sind, Aspergillen zu entwickeln, dann ist selbstverständlich die Frage in dem Sinne, in welchem Juhler dieselbe aufzufassen scheint, entschieden. Tritt aber eine solche Entwickelung nicht ein, so müssen wir noch immer zugestehen, es sei die Möglichkeit vorhanden, daß die Saccharomyceten anderen Stammformen angehörig sein können. Endlich haben wir auch in solchem Falle mit dieser Möglichkeit zu rechnen, die Saccharomyceten können sich zwar von Aspergillen oder anderen Stammformen entwickelt haben, im Laufe der vielen Generationen aber sich so weit von ihnen entfernt haben, daß sie nicht mehr imstande sind, zu denselben zurückzukehren, daß sie also selbständig geworden sind. Das Reich der Möglichkeiten ist groß, aber auf diesem Gebiete ist es besonders wichtig, nur mit sichergestellten Thatsachen zu rechnen.

Nach Reeß und de Bary betrachten wir die Exoasceen als diejenige Abteilung, an welche die Saccharomyceten sich am nächsten schließen. In seiner „Vergl. Morphologie und Biologie“ hebt de Bary hervor, daß die Formunterschiede zwischen Saccharomyceten und denjenigen Exoasceen, deren Hyphen in Asci aufgeteilt werden, so geringfügige sind, daß sie sehr gut die Vereinigung beider in eine Gattung zulassen. In einem Briefe teilte mir auch Sadebeck vor kurzem mit, daß er durch seine langjährigen Studien mehr und mehr zu der Auffassung gelangt ist, daß mehrere der Exoasceen Stammformen für Saccharomyceten bilden. Die Exoasceen enthalten ja auch dieselben Entwickelungsformen wie die Saccharomyceten, und nur diese; in mehreren Fällen ist die morphologische Uebereinstimmung geradezu eine schlagende. Den Untersuchungen Sadebeck's zufolge können Exoasceen gleichfalls Alkoholgärung hervorrufen. Die Ansicht dieses Forschers hat eine ganz besondere Bedeutung, denn, wie bekannt, verdanken wir eben ihm sehr eingehende Untersuchungen über diese Pilze. Was oben von den Aspergillen gesagt wurde, gilt natürlicherweise auch hier: Erst wenn wir typische Saccharomyceten in Exoasceen umgebildet haben, erst dann bekommen wir Sicherheit dafür, daß jene von diesen ihren Ursprung nehmen.

Die Stammformen derjenigen Arten, welche wie Sacch. anomalus die eigentümlichen hutförmigen Sporen bilden, sind wahrscheinlich an anderen Stellen zu suchen, nämlich wohl in der Nähe von Endomyces decipiens und Ascoidea rubescens.

Vor einigen Jahren war es bekanntlich eine unter den Mykologen sehr verbreitete Ansicht, daß die Saccharomyceten Entwicke-

lungsformen der gewöhnlichen Schimmelpilze, darunter auch der Aspergillen, seien. Die Begründung war indessen eine so unbefriedigende, daß wir jetzt kein Gewicht darauf legen können. Mehr Aufklärung finden wir in der Litteratur über die japanische Sakefabrikation. Man wendet hier Reis an und als Diastasebildner Aspergillus oryzae; die Reiskörner mit Vegetationen von diesem Schimmelpilze werden „Koji" oder „Taka-koji" genannt. Wenn man diese Litteratur durchmustert, bekommt man den Eindruck, daß mehrere Arten oder Varietäten mit dem Namen Aspergillus oryzae oder Eurot. oryzae bezeichnet sind, und einige derselben Hefezellen bilden und Alkoholgärung hervorrufen. In „The Brewers' Journal". London 1894, sowie in „The Scotsman" und anderen englischen Tageblättern wird mitgeteilt, daß ein japanischer Forscher, Jokichi Takamine, schon vor Jahr und Tag dargethan hat, Eurot. oryzae übe eine sehr kräftige Diastasewirkung aus und entwickele eine Hefe, welche in Zuckerlösung bis 20 Proz. Alkohol zu geben vermag.

Da man in Nordamerika in einigen Fabriken seit längerer Zeit Takamine's Entdeckungen verwertet, mag es wohl nicht unwahrscheinlich sein, daß sein Aspergillus derselbe ist, wie der von Juhler beobachtete; wie man sich erinnern wird, unternahm Juhler ja eben seine ersten diesbezüglichen Untersuchungen in Nordamerika.

Falls jemand der Leser meines Artikels imstande sein sollte, mir lebende Proben des oft genannten hefebildenden Aspergillus und des „Koji" senden zu können, werden dieselben mit großem Danke empfangen werden. Proben von Ascoidea rubescens und Endomyces decipiens (Ascus-Fruktifikation, aber nicht die Oidiumform) werden gleichfalls in hohem Grade willkommen sein. Sehr gern bin ich sowie das Carlsberger Laboratorium zu jedem Gegendienste bereit.

Wenn ich bei meiner Besprechung der Untersuchungen über die Abstammung der Saccharomyceten dazu aufgefordert habe, nicht nur Versuche mit den Aspergillen, Exoasceen u. s. w., sondern zugleich, und ganz besonders, mit den Saccharomyceten selbst anzustellen, wird man vielleicht dagegen einwenden, daß dies zu nichts führe. Es ist nämlich eine ziemlich verbreitete Auffassung, daß die Hefezellenform eines Pilzes nicht imstande sei, die Mycelform, woher sie stammt, zu entwickeln, sondern auf die Sprossung beschränkt sei. Wie Versuche sowohl in dem Carlsberger Laboratorium wie anderswo klargelegt haben, kommt dieser Auffassung aber lange nicht eine allgemeine Giltigkeit zu. Im Gegenteile haben wir, was die Saccharomyceten anbetrifft, Grund, anzunehmen, daß die Ursache, daß sie bis jetzt nicht andere Formen, als die im Augenblicke bekannten, entwickelt haben, darin zu suchen sei, daß sie überhaupt keine anderen haben, oder daß die angewandten Züchtungsmethoden weniger glücklich gewählt waren.

Zusammenfassende Uebersichten.

Neuere Arbeiten über die Knöllchenbakterien der Leguminosen und die Fixierung des freien Stickstoffs durch die Thätigkeit von Mikroorganismen.

Von
Prof. Dr. **Stutzer**
in
Bonn.

Ueber dieses für die Landwirtschaft wichtige Thema liegen die Ergebnisse verschiedener Arbeiten vor. Vorzugsweise handelte es sich um die Beantwortung folgender Fragen:

1) Bestehen zwischen den Knöllchenbakterien verschiedener Leguminosenarten wesentliche Unterschiede oder lassen sich alle diese Bakterien auf eine Art zurückführen?

2) In welcher Weise erfolgt die Fixierung des freien Stickstoffs?

3) Kommen Knöllchenbakterien auch bei Nicht-Leguminosen vor?

4) Findet die Fixierung des atmosphärischen N. bei höheren, Chlorophyll führenden Pflanzen nur durch den Symbiosepilz der Knöllchen statt, oder kann der atmosphärische Stickstoff auch durch solche Chlorophyll führende Pflanzen verwertet werden, welche keine Knöllchen besitzen?

5) Existieren im Boden Mikroorganismen, welche freien Stickstoff ohne Mitwirkung chlorophyllführender Pflanzen fixieren?

---

1) Bezüglich der erst genannten Frage erwähnen wir folgendes: den Beweisen Hellriegel's, daß die Knöllchenbakterien der Erbse völlig wirkungslos bei Serradella und Lupinen bleiben [1]) und demgemäß unter einander ein verschiedenes Verhalten zeigen, trat B. Frank entgegen und behauptete auf Grund von Versuchen [2]): „Die einzelnen Leguminose-Spezies scheinen nicht ihre besonderen Arten von Rhizobium zu haben, sondern es ist wahrscheinlich eine einzige Spezies dieses Pilzes in allen Erdböden verbreitet, welche mit jeder beliebigen Leguminose in Symbiose treten kann." — Die Beweisführung von Frank ist nicht ganz einwurfsfrei, und gelang es F. Nobbe, durch Verwendung reingezüchteter Bakterien aus den Knöllchen von Pisum und Robinia den bestimmten Nachweis zu liefern, daß die Beobachtungen von Hellriegel richtig sind. „Die Erbsen- und Robiniabakterien zeigen in ihrer physiologischen Wirkung Unterschiede, die nur durch die Annahme, daß dieselben — wenn nicht verschiedene Arten oder Varietäten — so doch Rassen- und

1) Zeitschr. des Vereins für Rübenzuckerindustrie im Deutschen Reiche. Beilageheft November 1888.

2) Landw. Jahrb. Bd. XIX. p. 633.

Ernährungsmodifikationen repräsentieren“ [1]). — Inzwischen sind die von Hellriegel und Nobbe ermittelten Thatsachen in der landwirtschaftlichen Praxis häufig bestätigt gefunden und wird namentlich bei der Kultur des Hochmoorbodens eine „Impfung“ des Bodens nicht selten vorgenommen. Beispielsweise beobachtete Salfeld [2]), daß ein Boden, in dem Erbsen wachsen sollten, durch dünnes Ueberstreuen geringer Mengen von Boden eines guten Erbsenfeldes ertragfähig gemacht werden konnten, während die Verwendung einer Erde von Lupinenfeldern als nutzlos sich erwies.

Höchst interessante Reinkulturversuche sind in neuester Zeit von F. Nobbe, L. Hiltner und E. Schmid ausgeführt [3]), um die noch offene Frage zu beantworten, ob die verschiedenen Leguminosen ungleiche Arten von Knöllchenbakterien oder nur unter einander abweichende Rassen einer ursprünglich gleichen Art beherbergen. Nobbe kommt zu folgendem Resultate: „Wir hegen nicht mehr den geringsten Zweifel, daß alle von uns geprüften Knöllchenbewohner der verschiedenen Leguminosen, selbst der Mimosaceen, einer Art: Bacillus radicicola (Beyerinck) angehören. Derselbe wird jedoch durch die Pflanze, in deren Wurzel sie lebt, so energisch beeinflußt, daß seine Nachkommen volle Wirkungsfähigkeit nur noch für jene Leguminosenart besitzen, zu welcher die Wirtspflanze gehört, für alle übrigen dieselbe aber mehr oder minder verlieren.“

Hiermit dürfte die anfangs gestellte Frage 1 in befriedigender Weise ihre Erledigung gefunden haben.

Die Knöllchenbakterien vermögen auch außerhalb des Pflanzenkörpers sich zu vermehren [4]) und ist ein allgemeines Vorkommen derselben in solchem Boden vorauszusetzen, welcher seit längerer Zeit Leguminosen nicht getragen hat, in welchem mithin eine Anpassung an eine bestimmte Gattung nicht erfolgen konnte. Aus der allgemeinen Verbreitung derartiger, gewissermaßen neutralen Bodenbakterien erklärt sich auch zwanglos die Erfahrung, sagt Nobbe, daß bei der Aussaat einer noch niemals an einem Orte angebauten Leguminose unter Umständen eine Knöllchenbildung eintritt.

Anders aber verhält sich die Sache, wenn ein Boden bereits Leguminosen getragen hat, wenn also bereits eine Anpassung der im Boden vorhandenen Bakterien an eine bestimmte Leguminose stattgefunden hat. Nobbe hatte im Jahre 1891 im Freiland eine Reihe von etwa 20 Keimlingen von Acacia Lophanta eingesetzt auf einer bisher unbenutzt gebliebenen Fläche, deren Ränder durch Vicia sepium seit einer Reihe von Jahren verunkrautet waren. Bei der Ernte zeigten die meisten Acacia-Pflänzchen Knöllchen; nur diejenigen erwiesen sich frei von solchen, welche in der Nähe der reich-

1) Landw. Versuchsstationen Bd. XXXIX. p. 348.
2) Deutsche landw. Presse 1892. p. 648.
3) Landw. Versuchsstat. Bd. XLV. p. 25.
4) Nobbe l. c.

lich Knöllchen tragenden Wicken zu stehen gekommen waren. Ebenso werden auf einem Felde, das z. B. Erbsen getragen hat, Klee, Serradella oder Lupinen gar nicht oder nur mangelhaft Knöllchen bilden, welche den freien atmosphärischen Stickstoff sammeln.

Eine Leguminose bildet bei der Aussaat in einen beliebigen Boden nur dann Knöllchen an ihren Wurzeln, wenn in demselben die neutrale oder gerade die der betreffenden Pflanzenart entsprechende Bakterienform vorhanden ist; das erstere wird der Fall sein, wenn in diesem Boden noch nie oder doch seit längerer Zeit nicht mehr Leguminosen gewachsen sind. In einer Erde jedoch, welche bereits durch einen dichten Leguminosenbestand an neutralen Bakterien mehr oder minder erschöpft ist, wird eine darauf folgende andere Leguminose, welche zu der vorhergegangenen nicht in naher verwandtschaftlicher Beziehung steht, keine Knöllchen mehr erzeugen, oder die Knöllchenbildung tritt wenigstens so spät und mangelhaft ein, daß sie für die Stickstoffernährung der Pflanzen von geringem Werte ist.

2) In welcher Weise erfolgt die Fixierung des freien Stickstoffs? Nach den Untersuchungen von F. Nobbe[1]) muß man annehmen, daß die Verarbeitung des Stickstoffs erst dann beginnt, wenn die Knöllchenbakterien in sogenannte Bakteroiden sich umgewandelt haben, und zwar entstehen letztere Gebilde aus den Bakterien durch mehrfache Teilungen, bei welchen aber eine Trennung in Einzelindividuen nicht mehr erfolgt. Die Teile sind durch eine gemeinsame Membran mit einander verbunden, allmählich verlieren die Bakteroiden die scharfe Umwandung, sie degenerieren und lösen sich schließlich auf. Die Umwandlung der Bakterien in Bakteroiden kann mit einer Zoogloeabildung verglichen werden. Sowohl im Jahre 1891 wie 1892, sagt F. Nobbe[2]), war zu wiederholten Malen der Fall eingetreten, daß eine Reinkultur von Bacterium radicicola, die noch kurz zuvor außerordentlich anregend auf die Stickstoffassimilation der Pflanzen gewirkt hatte, plötzlich zwar noch Knöllchenbildung, aber statt eines Ergrünens eher ein Erkranken der Pflanzen veranlaßte. Die Knöllchen selbst zeigten einige beachtenswerte Eigentümlichkeiten. Sie besaßen an ihrer Spitze kein Meristem und erschienen dadurch nahezu kugelrund; statt aus den charakteristisch geformten Bakteroiden, die fast vollständig fehlten, bestand ihr Inhalt aus einer die Zellen strotzend füllenden, ungeheueren Menge unveränderter Bakterien. Nach allem diesem muß die Kultur von der Zeit an, zu welcher dieselbe im Frühjahr aus den Knöllchen genommen war, bis gegen Ende Juli entschieden eine Veränderung erlitten haben. Diese bestand nach der Ansicht der Verff. darin, daß durch die oftmalige Uebertragung auf Erbsengelatine, in welcher den Bakterien außerordentlich günstige Ernährungsbedingungen gegeben waren, die vegetative Lebenskraft derselben eine bedeutende Steigerung erfuhr. Letztere äußerte sich in folgenden Erscheinungen:

1) Landw. Versuchsstat. Bd. XLII. p. 476.
2) Biedermann's Centralbl. f. Agrikulturchemie. 1894. p. 684.

Rascheres Wachstum auf Gelatine.

Eine größere Anzahl von Wurzelhaaren wird von Bakterien befallen, wie aus dem Vorhandensein zahlreicher Infektionsfäden hervorgeht.

Die Knöllchenbildung tritt viel frühzeitiger ein als sonst.

Die Verff. wenden sich weiter zu der Frage, ob diese Erhöhung der vegetativen Leistungsfähigkeit der Bakterien ausreichend zur Erklärung der geschilderten abnormen Erscheinungen ist. Auf Grund ihrer im Original ausführlich mitgeteilten Versuchsergebnisse gelangen sie zu folgenden Schlußfolgerungen:

Knöllchen, in denen Bakteroidenbildung unterbleibt, erweisen sich für die Wirtspflanze eher schädlich als förderlich; die unveränderten Bakterien verhalten sich gegen die Pflanzen als reine Parasiten, welche von letzteren bekämpft werden [1]).

Die unveränderten Bakterien scheinen mit der Stickstoffassimilation der Leguminosen nicht im Zusammenhange zu stehen.

Je lebenskräftiger die Bakterien sind, desto geringer ist ihre Neigung zur Bakteroidenbildung; je kräftiger die knöllchenbesitzenden Pflanzen, desto leichter vollzieht sich die Ueberführung der Bakterien zu Bakteroiden.

Erst mit der Bakteroidenbildung scheint die Stickstoffassimilation zu beginnen.

Was die Veranlassung giebt, sagt F. Nobbe, daß mit der Umwandlung der Bakterien in Bakteroiden innerhalb der Knöllchen plötzlich eine Bindung dieses Elementes stattfindet, darüber lassen sich vorläufig nur Vermutungen aufstellen. Einen Anhaltspunkt zur Lösung des Rätsels giebt die von uns aufgefundene Thatsache, daß nicht nur die von Bacterium radicicola erzeugten Knöllchen der Leguminosen, sondern auch die durch einen ganz anderen Organismus gebildeten Knöllchen von Elaeagnus der Wirtspflanze die Fähigkeit verleihen, sich den atmosphärischen Stickstoff nutzbar zu machen. Ebensowenig wie Bacterium radicicola wird der Elaeagnus-Pilz für sich allein die Stickstoffaufnahme bewirken können; dieses Vermögen kann demnach nur in Eigenschaften begründet sein, welche beiden Knöllchenarten gemeinsam zukommen. Solche sind aber gegeben in der sehr ähnlichen Struktur des Zellinhaltes dieser Knöllchen. Die Bakteroiden, welche das innere Knöllchengewebe ausfüllen, zeigen, wie schon Prazmowsky hervorgehoben hat, meist eine vollständig netzförmige Anordnung, die analogen Bildungen innerhalb der Elaeagnus-Knöllchen sind nach Frank und unseren eigenen Beobachtungen ebenfalls eigentümlich netzig-schwammig gelagert. Demnach erscheint es höchst wahrscheinlich, daß es sich bei der Aufnahme des Stickstoffes um einen Prozeß handelt, der sein Analogon in der Atmung der Tiere, namentlich in der Kiemenatmung besitzt. Die Bakteroiden bieten nicht nur durch die Art ihrer gegenseitigen Aneinanderlagerung, sondern auch durch ihren eigentümlichen inneren Bau dem stickstoffhaltigen Medium eine außerordentlich

---

1) Zu der gleichen Anschauung gelangte auch H. Möller (Berichte d. Dtsch. Bot. Ges. Bd. LX. 1892. p. 242).

große Oberfläche dar. Sollte sich die neueste Beobachtung Beyerinck's, daß bei Kultur des Bacterium radicicola außerhalb der Knöllchen eine wenn auch geringe Stickstoffaufnahme erfolgt, durch weitere Versuche bestätigen, so wäre wohl zu beachten, daß Beyerinck in diesen Kulturen, seiner eigenen Angabe zufolge, nicht die unveränderten Bakterien, sondern „Bakteroiden, Sterne und Schwärmer" gehabt hat; mit anderen Worten, es würde sich daraus schließen lässen, daß die Bakteroiden für sich allein infolge ihrer inneren Struktur die Assimilation bewerkstelligen können; ihre Gruppierung innerhalb der Knöllchen würde dann diese Fähigkeit nur erheblich vergrößern.

Sollten vorstehende Annahmen Nobbe's zutreffen, so würden wir dadurch eine Erklärung für den mechanischen Vorgang der Assimilation, aber nicht für den in diesem Falle interessanteren chemischen Vorgang finden. Bisher ist es nicht möglich, auch nur Vermutungen darüber auszusprechen, in welcher Weise der freie atmosphärische Stickstoff durch Vermittelung der Bakteroiden mit Wasserstoff- und Sauerstoff-Atomen sich verketten kann.

3) Die Knöllchenbildung bei Nichtleguminosen findet statt bei Elaeagnus angustifolius, Hippophae und Alnus. Betreffs der erstgenannten Pflanze wies F. Nobbe nach [1]), daß in deren Knöllchen, ebenfalls wie bei den Leguminosen, eine Bindung von freiem Stickstoff stattfindet, indes scheint hier ein vom Bacterium radicicola völlig abweichender Organismus thätig zu sein. Mit weiteren Untersuchungen ist der genannte Forscher beschäftigt.

4) Die Frage, ob zur Fixierung des freien Stickstoffes bei höheren chlorophyllführenden Pflanzen der Symbiosepilz der Leguminosen durchaus nötig ist, oder ob der atmosphärische Stickstoff auch durch solche chlorophyllführende Pflanzen verwertet werden kann, welche keine Knöllchen bilden, wird von verschiedenen Forschern in ungleicher Weise beantwortet. Wägt man das „für und wider" der Meinungsverschiedenheiten und ihrer Begründung unparteiisch ab, so ist die größere Wahrscheinlichkeit, daß der Symbiosepilz zur Fixierung des Stickstoffes unumgänglich notwendig sein dürfte, und zwar treten hierfür vorzugsweise ein: Hellriegel und Wilfarth, P. Wagner, F. Nobbe, U. Kreusler, Schlösing und Laurent [2]), A. Petermann [3]) und mehrere andere Forscher. Auf Seite der Gegner stehen B. Frank und G. Liebscher. Frank behauptet [4]), daß die Assimilation des freien Stickstoffes eine über das ganze Pflanzenreich und unter den verschiedensten Pflanzenformen verbreitete Lebenserscheinung sei, indes müsse bei den höheren Pflanzen der schwächliche Jugendzustand erst überwunden werden und sie besonders in ihren Blatt-

---

1) Landw. Versuchsstat. Bd. XLI. p. 139.

2) Compt. rend. T. CXI. p. 750, Biederm. Centralbl. f. Agrikulturchemie. 1891. p. 542.

3) Contribution à la question de l'azote. Bruxelles 1893 u. Biederm. Centralbl. f. Agrikulturchemie. 1894. p. 674.

4) Landw. Jahrb. Bd. XXI. p. 42.

apparat genügend gekräftigt sein. Für die Nicht-Leguminosen soll die Gegenwart von Stickstoffverbindungen im Boden das einzige Mittel bilden, um dem N-Hunger der Jungpflanze vorzubeugen und dieselbe soweit zu kräftigen, daß N-Erwerbung aus der Luft erfolgen kann. G. Liebscher pflichtete den Annahmen von E. Frank bei[1]. Gegen das von Frank und Liebscher beigebrachte Beweismaterial wurden namentlich von U. Kreusler[2] und P. Wagner[3] schwerwiegende Bedenken erhoben, welche zu dem Ergebnis führten, daß zur Fixierung des freien Stickstoffes von den höheren Pflanzen nur die knöllchenbildenden Leguminosen (sowie die nach F. Nobbe von anderen Pflanzenfamilien knöllchenbildenden Gewächse Elaeagnus, Hippophae und Alnus) befähigt sind, und diesbezügliche Nachweise für andere, höhere, chloraphyllführende Pflanzen nicht vorliegen. Liebscher modifiziert in neuester Zeit seine Ansicht dahin[4], daß der Senf wohl direkt keinen atmosphärischen Stickstoff aufnehme, wahrscheinlich aber befähigt sei, den Knöllchenbakterien der Leguminosen ihren gesamten Stickstoff zu entziehen, namentlich bei üppigem Wachsthum. Er nimmt an, daß die im Boden verbleibenden Knöllchenbakterien auch ohne Symbiose mit Leguminosen Stickstoff aus der Luft aufnehmen können.

5) Existieren im Boden Mikroorganismen, welche freien Stickstoff fixieren? Die Frage wird heute allseitig im bejahenden Sinne beantwortet. Nachdem M. Berthelot wiederholt darauf hingewiesen[5], wurde in Deutschland von B. Tacke[6] ebenfalls bestätigt, daß der von Mikroorganismen bewohnte Boden elementaren Stickstoff zu binden vermag. Einige Forscher, z. B. Schlösing und E. Laurent, sind der Meinung, es würde durch Algen und Moose die Stickstoffbindung bewirkt[7], indes kann es keinem Zweifel unterliegen, daß vorzugsweise Bakterienarten hierbei thätig sind.

Die Bakterien der Leguminoseknöllchen finden sich fast in jedem Ackerboden, und erscheinen die Hindeutungen von A. Prazmowski durchaus nicht unmöglich, daß das Bact. radicicola auch außerhalb einer Wirtspflanze vielleicht unter besonderen Umständen die Befähigung hat, in geringem Maße Stickstoff zu binden[8].

Wichtiger sind die neuesten Untersuchungen von G. Winogradsky[9]. Dieser züchtete aus Boden einen stickstoffbindenden Bacillus, welcher indes die merkwürdige Eigenschaft hatte, daß er allein, in Reinkultur, freien Stickstoff nicht fixierte, sondern erst

1) Journal f. Landwirtschaft. Bd. XLI. p. 186.
2) Biedermann's Centralbl. f. Agrikulturchemie. 1892. p. 258.
3) Deutsche landw. Presse. 1894.
4) Biedermann's Centralbl. f. Agrikulturchemie. 1894. p. 854, daselbst nach der „landw. Presse".
5) Zahlreiche Mitteilungen in den Comptes rendus, z. B.: 1887. No. 10. p. 625, Tome CVIII. No. 14. p. 700. Tome CXIII. p. 778.
6) Landw. Jahrb. Bd. XVIII. 1889. p. 439.
7) Comptes rendus T. CXIII. 1891. p. 776. (Biederm. Centralbl. f. Agrikulturchemie. 1892. p. 396.
8) Landw. Versuchsstat. Bd. XXXVIII. p. 55.
9) Comptes rendus 1893. T. CXVI. p. 1385 u. T. CXVIII. p. 353.

dann, wenn zwei andere, ihm im Boden begleitende Mikroorganismen gleichzeitig mitwirken. Es ist dies ein interessanter Fall einer Mischkultur, und sind von derartigen Untersuchungen weitere wichtige Aufschlüsse zu erwarten. Winogradsky erwähnt, daß die Stickstoffbindung bei der Kultur der Bakterien in stickstoffhaltigen Medien (Bouillon, Gelatine) nicht gelingt.

Nach Versuchen von Heinrich[1]) wachsen die aus Lupinenknöllchen rein gezüchteten Bakterien sehr gut auf sterilisierten Kartoffeln, indes findet dann eine Bindung des freien Stickstoffs nicht statt. Nach Ansicht des Ref. wird bei solchen Versuchen mit Knöllchenbakterien außerhalb der Wirtspflanze vielleicht das gleichzeitige Vorhandensein gewisser anderer Organismen nötig sein, welche die Wirtspflanze gewissermaßen vertreten, und könnte möglicherweise dann die N-Bindung ähnlich verlaufen, wie bei den Versuchen von Winogradsky.

Die Bakterien des Stalldüngers und ihre Wirkung[2]).

Zusammenfassende Uebersicht

von

Dr. E. Herfeldt

in

Bonn.

Der Stalldünger besteht bekanntlich aus einem Gemenge von Exkrementen landwirtschaftlicher Nutztiere und aus dem Streumateriale.

Die Exkremente bestehen aus den Darmausscheidungen (Kot, Faeces) und dem Sekrete der Nieren, dem Harne. Die Darmausscheidungen enthalten die unverdauten und unverdaulichen Reste des Futters, einen Teil der durch den Verdauungsapparat abgesonderten Flüssigkeiten, als Galle, Bauchspeichel u. s. w., denen noch abgenutzte Teile der Schleimhäute des Verdauungskanales beigemengt sind.

Durch den Harn werden die Endprodukte der Zersetzung stickstoffhaltiger Substanzen im Körper, ein Teil der aufgenommenen Salze und das überflüssige Wasser aus dem Körper entfernt.

Das Streumaterial besteht aus Pflanzenteilen und sonstigen pflanzlichen Stoffen, wie Stroh, Torf, Schilf, Laub, Reisig u. s. w.

Die Zersetzungsprozesse, welche der Dünger erleidet, und zwar teils im Stalle, hauptsächlich aber auf der Düngerstätte und schließlich auf dem Felde, sind nicht nur einfache Verwesungs- und Fäulnis-

---

1) 2. Bericht d. landw. Versuchsstat. Rostock von Heinrich 1894. p. 272.

2) Der nachfolgenden Arbeit ist Abschnitt 2 des Werkes: „Die Bakteriologie in ihren Beziehungen zur Landwirtschaft und zu den landwirtschaftlich-technischen Gewerben. 1. Teil“ von Dr. Ernst Kramer — Wien (Verlag von Karl Gerold's Sohn) — zu Grunde gelegt.

prozesse, sondern begreifen auch Gärungsvorgänge verschiedenartiger Natur in sich und erfolgen fast ausschließlich durch die Lebensthätigkeit einer enormen Menge verschiedener Bakterienarten.

Es begegnen uns bei der so vor sich gehenden Veränderung des Düngers:

1) Die Zersetzung von Eiweißstoffen und leimartigen Substanzen;
2) die Vergärung des Harnstoffes, die Zerlegung des Tyrosins, Leucins und anderer verwandter stickstoffhaltiger Körper und
3) die Gärung von Kohlehydraten, organischen Säuren und ihren Salzen.

Diese Zersetzungs- und Gärungsvorgänge sollen in nachfolgender Reihe besprochen werden:

a) die Vergärung der Fettsäuren;
b) die Vergärung der Amidoverbindungen;
c) die faulige Gärung;
d) die ammoniakalische oder Harnstoffgärung;
e) die Schwefelwasserstoffgärung;
f) die Cellulose- oder Sumpfgasgärung;
g) die Vergärung anderweitiger Kohlehydrate.

a) Die Vergärung der Fettsäuren.

Die bis jetzt bekannten wichtigsten Thatsachen finden in folgender Zusammenstellung Ausdruck:

Der Gärfähigkeit der Säuren ist in der Regel die Form der Kalksalze am förderlichsten (s. Tabelle p. 76).

b) Die Vergärung der Amidoverbindungen.

Amidosäuren und sonstige Amidoverbindungen gelangen sowohl aus den Pflanzenstoffen und tierischen Abfällen in den Dünger, als auch werden dieselben bei der fauligen Gärung der Eiweißstoffe abgespalten. Es gehören hierher Tyrosin, Leucin, Glutaminsäure, Glutamin, Asparagin, Glykokoll u. s. w. In ihren Gärungsvorgängen erforscht sind bis jetzt hauptsächlich Leucin und Tyrosin.

Leucin bildet bei der Gärung: Valeriansäure, Ammoniak, Kohlensäure und Wasserstoff.

Das Tyrosin entsteht in größerer Menge zu Beginn der fauligen Gärung, wird aber bald weiter zerlegt, und zwar werden bei Abschluss der Luft nach Nencki (1) Indol, Kohlensäure und Wasserstoff gebildet.

Bei Zutritt der Luft entstehen nach Baumann (2) der Reihe nach Hydroparacumarsäure, Paraoxyphenylessigsäure, Parakresol, Phenol und unter Abspaltung von Kohlensäure Wasser und Ammoniak.

Nach anderen entsteht auch Hydrozimmtsäure und nach Fitz (3) durch *Bacillus putrificus coli* Paraoxybenzoesäure und aus dieser Phenol.

c) Die faulige Gärung.

Die faulige Gärung ist die rasche und intensive Zersetzung von Eiweißstoffen durch die Lebensthätigkeit bestimmter Bakterienarten, wobei gasige, übelriechende Produkte gebildet werden. An der Zersetzung des gebotenen Materials — als Eiweißstoffe, Peptone, leim-

Lfde. No.	Gärende Substanz	Gärungs-erreger	Gärungsprodukte	Autoren
1	ameisensaur. Kalk	Bakterien aus Kloakenschlamm	kohlensaurer Kalk, Kohlensäure und Wasserstoff	Hoppe-Seyler Archiv f. d. g. Physiologie. XII
2	essigsaurer Kalk	,,	kohlensaurer Kalk, Kohlensäure und Sumpfgas	
3	milchsaurer Kalk (geht vier verschiedene Gärungen ein)	dünner Bacillus	1) Propionsäure und als Nebenprodukte: Essigsäure, Bernsteinsäure u. Alkohol	Fitz, 9 Aufsätze in den Berichten der deutschen chem. Gesellsch. 1876—84.
		andere Bakterienarten	2) Propionsäure, Valeriansäure	
		aërober, kurzer Buttersäurebac. (Fitz)	3) Buttersäure, Propionsäure	
			4) Buttersäure: nach Pasteur Comptes rend. 1861	
4	Äpfelsaurer Kalk	Bakterien, nicht näher beschrieben	1) Hauptprodukt: Propionsäure, Nebenprod.: Essigsäure	
		dünne Bacillen	2) Hauptprodukt: Bernsteinsäure, Nebenprod.: etwas Essigsäure	
			3) Buttersäure u. Wasserstoff	
		Bakterien	4) Milchsäure u. Kohlensäure	Schützenberger, Die Gärungserscheinungen 1876
5	weinsaurer Kalk	verschiedene Bakterienarten	1) Hauptprodukt: Propionsäure, Nebenprod.: Essigsäure	Pasteur und Fitz
			2) Buttersäure	
			3) Hauptprodukt: essigsaurer Kalk, Nebenprodukte: Aethylalkohol, Butter- u. Bernsteinsäure	
6	citronensaur. Kalk	kleine, dünne Bacillen	Essigsäure in größerer Menge, daneben Aethylalkohol und Bernsteinsäure in geringer Menge	Fitz
7	glycerinsaur. Kalk	Mikrokokken	1) essigsaurer Kalk neben geringen Mengen von Bernsteinsäure u. Aethylalkohol	
		mittelgroße Bacillen	2) Ameisensäure neben etwas Methylalkohol und Essigsäure	

gebende und leimartige Substanzen — beteiligt sich eine ganze Reihe von Bakterien und dementsprechend ist auch die Art der Zersetzung eine mannigfaltige, Schwankungen unterworfene und abhängig von der Bakterienart, der Art des Gärmaterials und äußeren Verhältnissen.

Im allgemeinen verläuft diese Gärung folgendermaßen: Zunächst erfolgt durch die Lebensthätigkeit von Bakterien die Umwandlung der Eiweißstoffe in Peptone, bezw. in lösliche Form. Die Peptone erleiden sodann Spaltung, und zwar derart, daß aus dem Eiweißmolekül Amidoderivate der Fettsäurereihe (vornehmlich Amidosäuren wie Leucin, Tyrosin etc.), ferner stickstoffhaltige Körper der aromatischen Reihe und vielleicht auch peptonartige Reste gebildet werden.

Die Amidosäuren spalten sich hierauf rasch in Fettsäuren und Ammoniak.

Die Fettsäuren werden dann weiter zerlegt. (Vergl. lit. a.)

Der Verlauf der fauligen Gärung und die Gärungsprodukte gestalten sich auch wesentlich verschieden, je nach den äußeren Verhältnissen, hauptsächlich aber danach, ob die Gärung bei reichlichem Sauerstoffzutritt stattfindet oder ob sie bei Luftabschluss verläuft.

Im ersteren Falle greifen energische Oxydationen Platz, wobei sich die einfachsten Verbindungen, wie Wasser, Kohlensäure, Ammoniak, bilden, während die sonst charakteristischen Fäulnisprodukte gar nicht wahrgenommen werden. Man bezeichnet diese Art der Gärung auch als Verwesung.

Bei Gärung unter Luftabschluß aber treten umfangreiche Reduktionserscheinungen auf. Oxysäuren werden in Fettsäuren übergeführt, weiter bildet sich Sumpfgas, Schwefelwasserstoff und Wasserstoff.

Diese Gärungsvorgänge pflegt man als eigentliche Fäulnis zu bezeichnen.

Eine Reihe von Bakterienarten nun, welche an den Vorgängen der fauligen Gärung gewöhnlich teilnehmen, sind schon bekannt, ebenso, wenigstens bis zu gewissem Grade, die Produkte, welche durch dieselben in Reinkulturen aus dem Eiweißmolekül gebildet werden, nämlich:

Bacillus saprogenes I, II und III, ferner Bacillus coprogenus foetidus, Bacillus pyogenes foetidus. Die von denselben produzierten stinkenden Gase sind noch nicht näher definiert.

Bacillus ureae, Bacillus prodigiosus, Bacillus fluorescens putidus entwickeln bei der Fäulnis Trimethylamin.

Bacillus pyocyaneus und Bacillus janthinus bilden bei der fauligen Gärung Pepton und Ammoniak, während die gewöhnlichsten Fäulnisbakterien, als Proteus vulgaris, Proteus mirabilis und Proteus Zenkeri Peptone und stinkende Gase erzeugen.

Genauer sind die Produkte der Zerlegung des Eiweißmoleküls durch Bacillus putrificus coli, Bacillus fluorescens liquefaciens und Bacillus butyricus (Hueppe) bekannt.

In der durch Bacillus putrificus coli hervorgerufenen fauligen Gärung treten nach den Untersuchungen von Bienstock (4) als Produkte der Eiweißzersetzung Pepton, Ammoniak, Aminbasen, Amidofettsäuren, Fettsäuren, Tyrosin, Phenol, Paraoxyphenylpropionsäure, Paraoxybenzoesäure, Indol und Skatol auf. Bacillus fluo-

rescens liquefaciens liefert hauptsächlich Pepton, flüchtige Fettsäuren und grauen Farbstoff, Bacillus butyricus (Hueppe) hingegen Pepton, Leucin, Tyrosin, Ammoniak und bitterschmeckende Stoffe. Nencki (5) fand bei der Zersetzung von Serumeiweiß durch die anaëroben Bacillenarten Bacillus magnus, Bacillus spinosus, Bacillus liquefaciens und den Rauschbrandbacillus, an gasförmigen Körpern: Wasserstoff und Methylmerkaptan, an flüchtigen Fettsäuren die ganze Reihe derselben bis inkl. der Capronsäure, dann Leucin nnd Phenylpropionsäure, Skatolessigsäure und Oxyphenylpropionsäure.

Nach demselben Forscher liefert Leim bei Zersetzung weder Tyrosin noch Indol und Skatol, wohl aber Benzoesäure.

Die Fähigkeit der Bakterien, oberflächlichere oder tiefere Zersetzungen des Eiweißes herbeizuführen, scheint nach den bisherigen Erfahrungen eine sehr verschiedene zu sein.

Es kann somit auch von einer allgemeingiltigen Umsetzungsgleichung für Fäulnisvorgänge nicht die Rede sein.

Sehr tiefgehende Zersetzungen des Eiweißmoleküls durch ein und dieselbe Bakterienart, wie z. B. durch Bacillus coli nach Bienstock, lassen sich wohl am besten in der Weise erklären, daß das Eiweißmolekül durch das betreffende Bakterium nur eine Peptonisierung, nachherige Abspaltung von Amidoverbindungen und Bildung von Ammoniak unter Abspaltung von Wasserstoff erleidet und daß alle weiteren Zersetzungen und Umsetzungen auf Reduktionen und Oxydationen, hervorgerufen durch den nascierenden Wasserstoff, zurückzuführen sind.

Damit dürfte auch der Umstand in Verbindung stehen, daß die faulige Gärung bei Sauerstoffabschluß (Fäulnis) anders verläuft, als bei reichlichem Sauerstoffzutritt (Verwesung); vergl. oben. Im Stalldünger, in der Düngerjauche, in den Abortgruben u. s. w. gehen sowohl Fäulnis wie Verwesung vor sich. Zuerst treten die aëroben Bakterien in Thätigkeit, und wenn durch diese der Sauerstoff im Innern des Gärmaterials aufgebraucht und Wasserstoff, Kohlensäure, Sumpfgas an seine Stelle getreten sind, dann setzen die anaëroben Bakterien die Arbeit fort und bilden namentlich stinkende Gase in reichlicher Menge.

Für den richtigen Gang der Zersetzung des Düngers sind hauptsächlich die anaëroben Bakterien von Bedeutung, da durch die aeroben eine zu weitgehende Zersetzung herbeigeführt wird und dann Wertbestandteile des Düngers luftförmig entweichen. Es müssen daher im Düngerhaufen Bedingungen hergestellt werden, welche die anaëroben Bakterien in ihrer Entwickelung und Vermehrung fördern.

Th. Schlösing (6) untersuchte, ob bei der Sumpfgasgärung des Stalldüngers, durch welche bei Luftabschluß neben Sumpfgas Kohlensäure und freier Wasserstoff gebildet wird, freier Stickstoff entsteht und gelangte dabei zu folgendem Ergebnis:

Freier Stickstoff entsteht nicht.

Aus dem im frischen Materiale vorhandenen Ammoniak und den organischen Substanzen sind organische stickstoffhaltige Körper nicht

gebildet worden; im Gegenteil, der in komplizierten organischen Verbindungen vorhandene Stickstoff hat sich in Ammoniak verwandelt.

Die organische Substanz hat mehr Kohlenstoff als Sauerstoff verloren, der Gehalt an Wasserstoff ist fast unverändert geblieben.

Das Wasser hat sich an der Zersetzung beteiligt und dem Kohlenstoff der organischen Substanz seine Elemente Sauerstoff und Wasserstoff geliefert.

Weitere Studien über Gärungserscheinnngen des Stallmistes liegen von Th. Schlösing (7) Vater und Sohn vor. Dieselben vermochten bei Luftzutritt energische Verbrennung im Verein mit kräftiger Thätigkeit von aëroben Bakterien, lebhafte Kohlensäureentwickelung, beträchtliche Temperaturerhöhung zu konstatieren, bei gehinderter Luftzufuhr Auftreten von anaëroben Mikroorganismen, Entwickelung von Sumpfgas, Wasserstoff und Kohlensäure unter weit geringerer Wärmeentwickelung, bei entsprechendem Luftzutritte kann die Temperatur so hoch steigen, daß die Mikrobenthätigkeit aufhört und rein chemische Verbrennung an ihre Stelle tritt.

Dieser Uebergang findet jedoch nicht plötzlich statt, sondern beide Erscheinungen verlaufen zeitweilig nebeneinander. Schlösing Sohn suchte nun durch Versuche festzustellen, welcher Anteil an der Zersetzung des Düngers jedem der beiden Faktoren, der Thätigkeit der Mikroben einerseits und der chemischen Verbrennung andererseits, bei verschiedenen Temperaturen zukommt.

Er fand hierbei, daß bei 66 ° noch durch die Thätigkeit aërober Mikroorganismen bei Luftzutritt über 17mal mehr Kohlensäure in geimpftem Dünger produziert wird, als in sterilisiertem Dünger, der nur Veränderungen durch chemische Einflüsse zugänglich ist.

Bei 79,5 ° aber hat das Leben der Mikroben ein Ende, während bei 73 ° noch deutlich Fermentwirkung sich zeigte.

In gleicher Weise stellte der Forscher fest, daß bei Luftabschluss die Sumpfgasgärung bei 66 ° nicht mehr stattfindet, daß ferner bei 52 ° die Entwickelung von kohlenstoffhaltigen Gasen und im Zusammenhang damit die Zersetzung der organischen Substanz weit größer bei Gegenwart von Mikroben, als in sterilisiertem Dünger ist, und daß ferner die Zersetzung durch rein chemische Vorgänge, bei 66 ° diejenige bei 52 ° übertrifft. In keinem Falle erreichte die Menge der produzierten Kohlensäure auch nur annähernd dieselbe Höhe wie bei der aëroben Gärung. (Schluß folgt.)

Ueber Nitrifikation.

Sammel-Referat.

Von
Dr. R. Burri
in
Bonn.

(Schluß.)

Warington (14) hatte ebenfalls konstatiert, daß in flüssigen Kulturen vorherrschend salpetrige Säure entstehe und hebt hervor, daß namentlich bei successive weiter gezüchteten Kulturen die Nitratbildung oft ganz verloren gehe. Die gleiche Erscheinung sah genannter Verf. auch eintreten, als er zu seinen Nährlösungen doppelt so viel Soda gab, als notwendig gewesen wäre, um die beim Nitrifikationsprozesse entstehenden freien Säuren zu neutralisieren. Ebenso erhielt er nur nitritbildende Kulturen, als er anstatt mit Ackerboden mit Wiesenboden impfte. Was die Frage betrifft, warum im Ackerboden immer nur Nitrate und in flüssigen Kulturen oft nur Nitrite gebildet werden, so glaubt Verf. nicht an eine Abschwächung des Ferments in flüssigen Kulturen, sondern nimmt an, daß bei dem Vorgang 2 verschiedene Organismen beteiligt sind, von denen der eine Ammoniak und der andere Nitrit oxydiert. Die in nitritbildenden Kulturen einerseits und in nitratbildenden Kulturen andererseits gefundenen Organismen sollen einander sehr ähnlich gewesen sein (14).

Müntz (20) äußert sich im Gegensatze zu Warington dahin, daß nur ein Organismus bei der Nitrifikation beteiligt sei und daß dieser Ammoniaksalze zu Nitriten oxydiere. Die Weiteroxydation zu Nitrat erfolge durch einen rein chemischen Prozeß. Er fand allerdings, daß eine verdünnte Lösung von Calciumnitrit durch den freien Sauerstoff der Luft nicht verändert wird, nimmt aber an, daß die Kohlensäure der Luft salpetrige Säure auszutreiben imstande sei und die letztere in Gegenwart von freiem Sauerstoff zu Salpetersäure oxydiert werde.

4. Mitteilung. Weitere Studien brachten Winogradsky (21) zu der Ueberzeugung, daß die von ihm früher als „Nitromonas“ beschriebene Art als solche nicht streng aufrecht zu erhalten war, sondern daß konstant auftretende morphologische Unterschiede zu einer Trennung in verschiedene Typen nötigten, die er vorläufig unter dem Namen „Nitrobakterien“ zusammenfaßt. — Das früher angegebene Isolierungsverfahren erwies sich in der Folge auch nicht als genügend zuverlässig und so griff W. wieder auf die festen Nährböden zurück. Versuche mit Agar, das keine andern Zusätze als die nötigen Mineralsalze enthielt, schlugen fehl, indem sich die Nitrobakterien gar nicht, die verunreinigenden Arten aber sehr üppig entwickelten. Es stellte sich auch hier wie zur Zeit bei den flüssigen Nährböden heraus, daß Abwesenheit von organischer Substanz das beste Mittel ist, um fremde Bakterienarten wenigstens teilweise fernzuhalten und in ihrem Wachs-

tume zu beschränken. Diesen Forderungen entsprach voraussichtlich der von W. Kühne (22) vorgeschlagene Kieselsäurenährboden, und in der That gelangte Verf. mit Hülfe desselben zu guten Resultaten. Dem Prinzipe nach wird eine durch Dialysieren eines Gemisches von Wasserglas und Salzsäure erhaltene wässerige Kieselsäure soweit eingedampft, daß sie beim Vermischen mit einer Nährsalzlösung von bestimmtem Gehalte in kurzer Zeit gelatinisiert. Die von W. verwendete Salzlösung enthielt auf 100 ccm dest. Wasser:

Ammonsulfat	0,4 g
Magnesiumsulfat	0,05 g
Kaliumphosphat	0,1 g
Natriumkarbonat	0,6—0,9 g
Calciumchlorid	Spur.

Die Impfung der Platten geschah entweder durch Vermischen des Impfmaterials mit der Salzlösung vor der Zugabe der Kieselsäure oder es wurden mit der Platinnadel auf den schon erstarrten Platten Strichkulturen angelegt. Die auf erstgenanntem Wege erhaltenen Kolonien bleiben immer sehr klein; den Impfstrichen entlang sollen sich jedoch weißliche, ziemlich dicke Krusten bilden. Nicht nitrifizierende Bakterienarten gedeihen zwar zum Teil auf diesem Nährboden auch, aber nur kümmerlich und stellen bald ihr Wachstum ein, währenddem die Kolonieen der Nitrobakterien wochenlang fortwachsen.

Als Impfmaterial kann man direkt Erde verwenden, nach Verf. ist es jedoch vorteilhaft, zuerst mit einer Spur Erde sterile Nährlösung zu versetzen und dann das Aussaatmaterial für die Platten von dieser in Oxydation begriffenen Kultur zu entnehmen. Auf diese Weise sollen fast nur gleichartige Kolonieen zum Vorschein kommen, welche durch Nitrobakterien gebildet werden, wie man sich durch chemische Reagentien überzeugen kann.

In der 5. Mitteilung (23) wendet sich Winogradsky der Frage zu, warum in flüssigen Kulturen meist nur Nitrite, im Ackerboden aber nur Nitrate gebildet werden. Er konnte durch Versuche folgendes feststellen: 1) Eine möglichst ausgiebige Lüftung der Kulturen hat nur eine Erhöhung der Gesamtoxydation, nicht eine Vermehrung der Nitrate auf Kosten der Nitrite zur Folge. 2) Nitratbildung wird immer erzielt, wenn man die für den Nitrifikationsprozeß geeignete Nährlösung mit einer Spur Erde impft, nur muß die dazu erforderliche Zeit abgewartet werden. Im normalen Falle bildet sich zuerst Nitrit, dessen Menge zunimmt, bis alles Ammoniak verschwunden ist; erst jetzt beginnt die Nitratbildung, welche nun ihrerseits andauert, bis sämtliches Nitrit verbraucht ist. Die Fähigkeit einer Kultur, Nitrat zu bilden, hängt demnach von dem Zustande ab, in welchem sich die Kultur, von welcher man abimpft, zur Zeit befindet. Es ist nicht die physikalische Beschaffenheit des Nährmediums, sondern es müssen besondere biologische Verhältnisse sein, welche einer Kultur das Vermögen, Nitrat zu bilden, erteilen. Diese Erkenntnis führte W. zu der Annahme, daß es zwei nitrifizierende Fermente giebt, von denen das eine Ammoniaksalz in Nitrit und das

andere Nitrit in Nitrat überführt. Impft man nun aus einer Kultur, in welcher Nitratbildung noch nicht begonnen hat, auf frische Nährlösung fort und setzt man diese Impfungen successive fort, so ist leicht erklärlich, daß man nach wenigen Uebertragungen zu Kulturen kommen muß, die unfähig sind, Nitrit in Nitrat zu verwandeln, weil eben der dazu notwendige Organismus fehlt. Benutzt man hingegen zur Weiterimpfung eine Kultur, die mit der Nitratbildung begonnen oder diese vollendet hat, so wird die Tochterkultur ebenfalls Nitrite oxydieren können. Eine vorläufige Trennung der beiden Organismen bewerkstelligte W. in einfacher Weise dadurch, daß er von einer nitratbildenden Kultur eine Spur in Nährlösung aussäte, die kein Ammoniak enthielt, wohl aber Nitrit. Nach wenigen solchen Uebertragungen war der Nitritbildner unterdrückt und Impfungen aus den nitratbildenden Tochterkulturen brachten in der ursprünglichen Ammoniaksalz enthaltenden Nährlösung keine Veränderung hervor. Solche vom Nitritbildner befreite Kulturen zeigten nie Trübung und es ließen sich auch in der Flüssigkeit keine Organismen entdecken. Wohl aber fand W. Boden und Wandung des Gefäßes mit einem dünnen gelatinösen Häutchen bekleidet, das fest anhaftete und aus äußerst kleinen, etwa $^1/_2$ μ langen Stäbchen von 2—$2^1/_2$mal geringerer Breite zusammengesetzt war. Diese stellten den gesuchten Nitratbildner dar, und Aussaat auf nitrithaltige Kieselsäureplatten ergab linsenförmige bis kugelige Kolonieen, welche in den Platten selbst das Nitrit zu Nitrat oxydierten.

Mit seinen einwandfreien Reinkulturen war nun W. auch imstande, Müntz zu widerlegen, welcher die Weiteroxydation von Nitrit zu Nitrat als rein chemischen Vorgang aufgefaßt haben wollte (21). Als W. sterilisierte und mit Ammoniaksalz versetzte Erde mit seinem Nitritbildner impfte, wurde sämtliches Ammoniak in Nitrit umgewandelt; letzteres hingegen blieb unverändert. In einer Kontrollkultur mit nicht sterilisierter uud der gleichen Menge Ammoniaksalz versetzter Erde hingegen fanden sich vorübergehend nur Spuren von Nitrit, und schließlich war sämtliches Ammoniaksalz zu Nitrat oxydiert.

Aus diesen und anderen Versuchen mit Erde zieht Verf. folgende Schlüsse:

1) Normale Erde produziert nur Nitrate, was schon lange bekannt war. Die Bildung von Nitriten ist ganz vorübergehend, selbst bei Vorhandensein von relativ großen Ammoniakmengen.
2) Der Nitritbildner erzeugt in der Erde nur Nitrit und dieses wird von ihm nicht weiter oxydiert.
3) Das Nitrit bleibt auch in Gegenwart der unzähligen Bodenbakterien unverändert, wenn der Nitratbildner fehlt.
4) Wenn aber mit dem Nitritbildner gleichzeitig ein Nitratbildner in sterile Erde eingeführt wird, so differiert der Vorgang in nichts von dem natürlichen, d. h. das Nitrit wird in dem Maße oxydiert, wie es gebildet wird, unabhängig von der Menge des restierenden Ammoniaksalzes.

Durch die schönen Arbeiten von Winogradsky ist die bakteriologische Seite der Nitrifikationsfrage der Hauptsache nach als

gelöst zu betrachten. Was die für die Bearbeitung der ganzen Frage ebenfalls sehr wertvollen Arbeiten von Frankland und Warington betrifft, so dürften diese Forscher wohl kaum mit Reinkulturen gearbeitet haben. Wo Letzterer z. B. in Milch, Urin u. s. w. sich Nitrite bilden sah, waren jedenfalls Bakterien mit im Spiele, die aus stickstoffhaltigen Substanzen der genannten Flüssigkeiten Ammoniak abspalteten, welches dann nachträglich durch den Nitritbildner oxydiert worden ist.

Müntz hat übrigens schon vor längerer Zeit Studien über das gegenseitige Verhältnis von Nitrifikation und Ammoniakbildung gemacht. Er fand, daß in Böden, deren Dichtigkeit die Nitrifikation erschwert, fast nur Ammoniak entsteht. Ebenso entsteht in Böden, die auf 90° erhitzt waren, fast nur Ammoniak (24). Genannter Forscher macht später darauf aufmerksam, daß der Nitrifikation von organischen Dungstoffen überhaupt immer eine Ammoniakbildung vorausgehe und daß dann die gebildeten Ammoniaksalze direkt von den nitrifizierenden Organismen angegriffen würden (25).

Helm (26) stellte sich die Aufgabe, den von Winogradsky beschriebenen Salpeterbildner (Nitritbildner) aus dem sog. Mauersalpeter zu züchten. Nach mehreren erfolglosen Versuchen will H. durch Aussaat von Spuren von Ziegelsteinauswitterung in geeignete Nährlösung nitrifizierende Kulturen bekommen haben, die Organismen enthielten, welche morphologisch vollkommen den von Winogradsky beschriebenen entsprachen. Um Reinkulturen konnte es sich dabei nicht handeln, da H. weder durch Verdünnung noch durch Kieselsäureplatten eine Isolierung unternommen hat.

Weitere Versuche des Verf.'s bezogen sich auf die Frage, ob die aus Mauersalpeter erhaltenen Organismen auch gasförmiges Ammoniak zu absorbieren imstande wären. Die Frage wurde in bejahendem Sinne beantwortet, indem bei Kulturen, denen ein Ammoniaksalz nicht zugegeben war, die aber in einer Ammoniakatmosphäre standen, eine „recht bedeutende" Menge von Salpetersäure gebildet wurde.

Zum Schlusse sei eine Arbeit von Chuard (27) erwähnt, welcher darauf hinweist daß in der die oberste Schicht der Torflager bildenden Erde die Nitrifikation anders vor sich gehen müsse, als in der Ackererde. An ihrer Lagerstätte führt diese Erde nur organischen und Ammoniakstickstoff. Nach dem Transport hingegen bildet sich bald Salpetersäure auf Kosten des Ammoniaks, und zwar in beträchtlicher Menge. Zusatz von Alkali- und Erdalkalikarbonaten schien die Menge des gebildeten Nitrates zu verringern. In Lösungen anorganischer Salze ließ sich bei Infektion mit solcher Torferde keine lebhafte Nitrifikation hervorrufen. Verf. hat die die Ammoniakoxydation veranlassenden Organismen nicht näher untersucht.

Litteratur.

1) Kramer, E., Die Bakteriologie in ihren Beziehungen zur Landwirtschaft. Teil I. Wien 1890. p. 65 ff.
2) Schlösing und Müntz, C. R. T. LXXXIV. p. 301 u. T. LXXXV. p 1018.
3) Müller, Landw. Vers.-Stat. Bd. VI. p. 263.
4) Warington, R., Chem. News Vol. XXXVI. p. 263, und Chem. Soc. 33. 44.
5) Emich, Sitzungsber. d. k. Ak. d. Wiss. in Wien. 1885. p. 67.
6) Munro, Chem. Soc. 1886. p. 632—681.

7) Frank, Ber. d. Deutsch. bot. Ges. in Berlin. Bd. IV. 1886. p. 108. Deutsche landw. Presse. Jahrg. XIV. p. 109. Daselbst. Jahrg. XVI. No. 104.
8) Plath, Landw. Jahrbücher. Bd. XVI. p. 891.
9) Landolt. Deutsche landw. Presse. Jahrg. XV. No. 30.
10) Hueppe, Tageblatt der Naturforscherversammlung in Wiesbaden. 1887.
11) Heraeus, Zeitschr. f. Hyg. Bd. I. p. 193.
12) Winogradsky, Annales de l'Institut Pasteur. 1890. No. 4. p. 213.
13) Frankland, P. and G., Proc. of the Royal Soc. Vol. XLVII. No. 289. Philos. Transact. of the R. Soc. of London. Vol. CLXXXI. p. 107.
14) Warington, R., On nitrification. Part. IV. (Journal of the Chemical Soc. Transactions. Vol. II. 1891. p. 484; Chem. News. Vol. LXIII. No. 1647.
15) Winogradsky, Annales de l'Institut Pasteur. 1890. No. 5. p. 257.
16) Loew, Osc., Bot. Centralblatt. 1891. No. 20.
17) Müntz, C. R. T. CXI. 1890. p. 1370.
18) Godlewsky, E., Anzeiger d. Akad. d. Wiss. in Krakau. 1892. p. 408.
19) Annales de l'Institut Pasteur. 1890. No. 12. p. 760.
20) Müntz, C. R. T. CXII. 1891. p 1142.
21) Winogradsky, Annales de l'Institut Pasteur. 1891. No. 2. p. 92.
22) Kühne, W., Centralbl. f. Bakt. u. Paras. Bd. VIII. p. 410.
23) Winogradsky, Annales de l'Institut Pasteur. 1891. No. 9. p. 577.
24) Müntz, C. R. N. CX. 1890. p. 1206.
25) Müntz, Annales de la science agron. 1889. T. II. p. 70.
26) Helm, Otto, Thonindustrie-Zeitung. Jahrg. XVIII. 1894. No. 19.
27) Chuard, E, C. R. T. CXIV. 1892. p. 181.

Vergl. außerdem die Einzelreferate im Centralbl. f. Bakt. u. Paras., sowie in Koch's Jahresber.

Ueber Buttersäuregärung.

Von

Dr. Eduard Baier,

Assistenten a. d. bakteriol. Abteilung der landwirtschaftlichen Versuchsstation in Kiel.

(Fortsetzung.)

Liborius[1]) isolierte aus Erde, altem Käse, Kuhexkrementen mehrere anaërobe Buttersäureerreger.

I. Clostrid. foeditum Liborius ist ca. 1 μ dick, von verschiedener Länge, lebhaft beweglich; Sporenbildung häufig, meist in der Mitte, zuweilen am Ende, der Bacillus schwillt dabei auf. „Morphologisch besteht nach Liborius somit eine große Aehnlichkeit mit Bacillus butyricus Prazmowski.“

Er ist nicht streng anaërob. Auf Agarplatten wächst er in kleinen, gelblich-weißen, mit kurzen Ausläufern versehenen unregelmäßigen Häufchen von verschiedener Größe. Gelatine wird verflüssigt wenigstens in der direkten Umgebung der Kolonieen. Er entwickelt stark stinkende Gase, scheidet flüchtige Fettsäure, namentlich Buttersäure aus. Einen Vergleich dieses Bacillus mit dem Clostrid. Prazm. hat L. nicht angestellt.

II. Bacillus polypiformis. Schlanke Bacillen von verschiedener Länge und ca. 1 μ Dicke, ohne Neigung, Fäden zu bilden. Sporen sind ovale oder sogar cylindrische, langgestreckte, glänzende

---

1) Zeitschrift f. Hygiene. Bd. I. p. 160—163.

Partieen, oft die größere Hälfte bis zu $^2/_3$ eines Bacillus einnehmend. Er ist exquisit anaërob. Gelatine wird nicht verflüssigt. Die Kolonieen sind gelbliche kleine Häutchen mit tiefgebuchteter und gelappter Kontur. Zahlreiche gewundene, sich biegende und schlängelnde, bald dünne, bald dicke Fortsätze strahlen nach allen Radien aus, an die Arme eines Polypen erinnernd. Auf Agar wächst er in stecknadelkopfgroßen, unregelmäßig konturierten Ballen, bei schwacher Vergrößerung bräunliche, fein granulierte, maulbeerförmige Konglomerate. Gasentwickelung wurde nicht beobachtet.

III. Bacillus muscoides. Bacillen mit meist endständigen, rundlich-ovalen Sporen; Kolonieen in Gelatine und Agar stark verästelt (moosartig); streng anaërob. Kommt häufig mit den beiden vorhergehenden in Verbindung vor.

Bac. polypiformis und Bac. muscoides haben weder peptonisierende noch gärungserregende Eigenschaften; beide Eigenschaften vereinigt jedoch Clostrid. foeditum. Daß Clostr. foeditum zur Gruppe Granulobacter zu rechnen ist, darüber dürfte kein Zweifel sein; hingegen sind die beiden letzteren nicht als Buttersäurebildner aufzufassen. Genauere Untersuchungen über die beiden liegen nicht vor und ihre Herkunft ist unsicher.

Ein weiterer Bacillus butyricus ist von Botkin[1]) eingehend untersucht und beschrieben worden. B. vermutet, daß es in der Natur auch solche Buttersäure bildende Bakterien giebt, die freie Säure auszuscheiden vermögen, ohne in dem mitgebildeten alkalischen Produkte zu neutralisieren; er fand einen solchen in Milch und konnte denselben in jeder Milch nachweisen, daneben konnte er dessen Existenz auch in Leitungswasser, Brunnenwasser, Gartenerde und fast immer im Staube konstatieren.

Die rasche Gerinnung der Milch mit sehr reichlicher Gasbildung, schreibt B., wird hauptsächlich durch die sich dabei bildende freie Buttersäure bedingt. Aehnlich verhält sich der Bacillus in Stärke- und Zuckerlösungen. Der Autor betrachtet diesen Mikroorganismus als den echten Bacillus butyricus, der nur bei strenger Anaërobiose wächst. Seine Kolonieen auf Zuckeragar zeigen keinen bedeutenden Unterschied gegenüber anderen Anaërobien. Auf Zuckergelatine bildet er runde oder längliche Kolonieen mit schwach wellenförmigem Rande, gleichsam aus einer Masse verfilzter Fäden bestehend; Verzweigungen, wie auf Agar, konnte Autor nicht beobachten. Sein Wachstum tritt schon nach ca. 15—18 Stunden ein, jedoch ist die Entwickelung unter 18° eine sehr geringe. B. verfolgte hauptsächlich die Einwirkungen des Bacillus butyricus auf Milch. 15 Stunden nach der Impfung derselben trat schon Fällung des Kaseïns ein, unnd es entsteht eine helle Serumflüssigkeit; nach Verlauf von 18 Stunden ist die ganze Milch zersetzt, nur das Fett und Kaseïngerinnsel bleiben sichtbar in der Lösung; eine stürmische Gasentwickelung ist mit dem Prozesse verknüpft. Im Verlaufe von weiteren 24 Stunden nimmt die Gasentwickelung ab, die Milch hat das Aussehen einer ganz durchsichtigen gelblichen Flüssigkeit er-

1) Zeitschrift f. Hygiene. Bd. XI. p. 421.

halten, am Boden der Flasche sitzt ein flockiger weißer Niederschlag; an der Oberfläche schwimmt ein Fettklumpen; das Kaseïngerinnsel ist fast gänzlich gelöst. Der Bacillus wächst auf Zuckeragar und -Gelatine in Gestalt von Stäbchen, 0,5 μ breit, 1—3 μ lang; in flüssigen Nährmedien sind häufig Ketten zu beobachten.

Die Sporen erscheinen gewöhnlich in der Mitte der Organismen, aber auch an den Enden mitunter. Die günstigste Wachstumstemperatur ist 37—38° C.

Eine Eigentümlichkeit, auf die ich hier besonders aufmerksam machen möchte, hat Autor konstatiert. In Nährböden nämlich, die Stärke enthielten, zeigte es sich am 2.—3. Wachstumstage, daß manche der Bakterien Körnchen enthalten, die durch Jod intensiv blau gefärbt werden. Verf. kann sich den Zusammenhang einer solchen Körnung und Sporenbildung nicht erklären. Ueber das biologische Verhalten des Bacillus butyricus sei nur erwähnt, daß die Hauptmenge der gebildeten Säuren Buttersäure, Milchsäure neben Spuren von Bernsteinsäure und Ameisensäure und Essigsäure war. Mit einem Versuche endlich, mit dem Verf. die Einwirkung des Bacillus auf eine zu diesem Zwecke dargestellte stärkehaltige Nährlösung ausübte, wies er nach, daß Stärke in Zucker umgewandelt wurde und auch Buttersäure entstanden war, und schließt aus diesem Verhalten, daß die Buttersäure direkt, ohne vorher in Milchsäureverbindungen überzugehen, aus Zucker gebildet wird, was er auch durch angestellte Versuche mit milchsauren Salzen beweist.

Botkin's Bacillus butyricus zeigt viel Aehnlichkeit mit dem Granulobacter saccharobutyricum[1]), namentlich stimmt überein die starke Verbreitung und das regelmäßige Antreffen auf den bekannten Nährböden; auch die Granulosereaktion weist darauf hin, daß er ein zur Granulobacterklasse zuzurechnender Mikroorganismus sein dürfte.

Auf sicheren Füßen steht natürlich dieser Identitätsnachweis nicht, da beide Autoren mit verschiedenen Nährmaterialien arbeiteten.

Einen mit dem Botkin'schen Bacillus butyricus in seinem biologischen Verhalten besonders häufig übereinstimmenden Mikroorganismus beschreibt auch Perdrix[2]); jedoch verflüssigt er Gelatine zum Unterschiede von Bacillus butyricus Botkin.

Beiträge neueren Datums zur Frage der Buttersäurebakterien lieferten Kedrowski[3]) und Flügge[4]).

Ersterer kultivierte aus zwei Gemischen[5]), welche zur Buttersäuregärung bereitet worden waren, zwei Buttersäure produzierende Bakterienarten. Ich übergehe die sehr ausführlich beschriebenen Eigenschaften derselben, da der Autor selbst es versucht hat, die

---

1) Beyerinck.

2) Annales de l'Institut Pasteur. T. V. 1891. p. 287. Mai.

3) Zeitschrift f. Hygiene. Bd. XVI. p. 445.

4) Zeitschrift f. Hygiene. Bd. XVII. p. 288.

5) No. I: 300 g Rohrzucker, 1,5 g Weinsäure, 1000 g Wasser; nach einigen Tagen wurden 12 g fauliger Käse und ranzige Butter nebst 400 ccm gesäuerter Milch und 150 g gepulverter Kreide zugefügt. — No. II: Milchsaure CaO-Lösung (CaO in Ueberschuß) wurde mit fauliger Käsemilch und ranziger Butter vermischt.

erhaltenen Arten durch Vergleich mit den schon bekannten zu bestimmen; er konnte feststellen, daß Bacillus I große Aehnlichkeit in morphologischer Hinsicht, namentlich wenn er ihn in Milch kultivierte, mit den von Pasteur und Prazmowski gefundenen Buttersäurebakterien hatte. An den Liborius'schen Bacillus erinnert dieser Bacillus mit seiner Fähigkeit, sehr schnell Gelatine zu verflüssigen, während aber beide Bakterien auf Agarplatten ungleichartige Kolonieen entwickeln. In dieser Hinsicht entspricht er mehr dem von Botkin gefundenen Bacillus butyricus. Aber von diesem ist er dann wieder morphologisch sehr verschieden. — Man vermißt unter diesen Hinweisen einen Vergleich mit der Gruber'schen Arbeit über die Prazmowski'schen Buttersäurebacillen, vielleicht wäre dieser entscheidend gewesen für die Identifizierung und Benennung dieses Bacillus.

Bakterie II zeigt auf Gelatine gezüchtet das gleiche Wachstum wie Bakterie I, wächst jedoch rascher und verflüssigt wie I die Gelatine. Die Kolonieen erinnern in ihrem Aussehen an den von Lüderitz bestimmten anaëroben Bacillus liquefaciens magnus. Reichliche stinkende Gasentwickelung ist zu beobachten wie bei I. Sowohl in morphologischer wie in kultureller Beziehung sind große Differenzen zwischen I und II nicht zu finden; als Umsetzungsprodukt ist in beiden Buttersäure nur durch den Geruch des mit Baryt eingedampften und wieder mit H_2SO_2 zersetzten Destillates konstatiert worden.

Es wäre sehr wünschenswert und von Interesse, wenn der Herr Autor in der Lage sein würde, diesen seinen vorläufigen Mitteilungen über die beiden Buttersäurebakterien weitere Resultate folgen lassen zu können.

Flügge (s. oben) teilte nun jüngst mit, daß er 4 Milchanaëroben isoliert hat. Er stellte ihre Eigenschaften und namentlich aber ihre Wirkung auf Versuchstiere bezw. den Menschen fest. No. I dieser anaëroben Milchbakterien hat sich als der verbreitete Bacillus butyricus Botkin herausgestellt. No. II und III fanden sich auch sehr häufig in Milch vor, No. IV in 20 Proz. der zu verschiedenen Zeiten untersuchten Proben. Aus der Uebersicht über die Wachstumsverhältnisse dieser 4 Bakterien ist zu entnehmen, daß (den Bacillus butyricus Botkin ausgenommen) No. II und III voraussichtlich nicht als Buttersäurebakterien anzusehen sind; nähere Untersuchungen fehlen aber noch.

Weitere wichtige Angaben über Buttersäurebakterien existieren meines Wissens nicht. Es bleibt deshalb noch übrig, eine vorläufige Mitteilung über die von uns isolierten Buttersäurebakterien zu machen.

(Schluß folgt.)

Referate.

Bau, A., Der Sammelbegriff Saccharomyces cerevisiae. (Sonderabdruck aus „Wochenschrift für Brauerei. 1894. No. 43.)

Wie bekannt, machte Hansen bereits im Jahre 1884 („Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen" und später ausführlich in seinen „Untersuchungen aus der Praxis der Gärungsindustrie") und der Ref. 1885 („Allg. Brauer- und Hopfenzeitung". Festnummer) darauf aufmerksam, daß für die unter der Bezeichnung Saccharomyces cerevisiae in den untergärigen Brauereien angewendeten Heferassen zwischen stark und schwach vergärenden Typen zu unterscheiden sei, und im Jahre 1889 wies Ref. dasselbe für die Oberhefe nach (1. Ausgabe von „Die Mikroorganismen der Gärungsindustrie") und hob zugleich hervor, daß die Kultur-Oberheferassen den Unterheferassen gegenüber dadurch charakterisiert werden können, daß sie reichlichere Sporen bilden, welche ferner früher als bei den Unterheferassen auftreten unter gleichen Bedingungen. Später haben zahlreiche Erfahrungen bewiesen, daß die obengenannten Merkmale sich bei den Rassen bei sehr verschiedenen Bedingungen unverändert bewahren.

Der Verf., welcher Rassen stark und schwach vergärender Unter- und Oberhefe von der Gruppe Sacch. cerevisiae in Bezug auf ihr Verhalten den Zuckerarten gegenüber untersucht hat, hat auf Grund dieser Untersuchungen 4 Artengruppen aufgestellt, in je eine, von welchen alle in der Industrie angewendeten Rassen gebracht werden könnten.

Die Arten wurden unter höchst verschiedenen Bedingungen gezüchtet, sowie auch Kulturen von sehr verschiedenem Alter verwendet wurden; sie zeigten stets das gleiche Verhalten gegenüber den angewendeten Zuckerarten: die Unterheferassen vergoren die Melitriose und Melibiose vollständig; die Oberheferassen vergoren die Melibiose nicht, und die Melitriose wurde von ihnen in Fruktose (vergärbar) und Melibiose zerlegt.

Die Versuche des Verfassers mit stark vergärenden Rassen von sowohl Unter- als Oberhefe (Sacch. cerevisiae) haben gezeigt, daß diese die 5 in der Malzbierwürze vorkommenden Zuckerarten Glukose, Fruktose, Saccharose, Maltose und Isomaltose vergären, wenn der „Endvergärungsgrad" erreicht wird. Dagegen hinterlassen die untersuchten, schwach vergärenden Rassen von Unter- und Oberhefe einen Rest von nicht vergärbarer Isomaltose; der Verf. nennt diese Modifikation β-Isomaltose, im Gegensatze zur α-Isomaltose, welche von den untersuchten, schwach vergärenden Rassen vergoren wird.

Der Verf. bemerkt, daß Sacch. ellipsoideus II Hansen, welcher gewöhnlich als Unterhefe auftritt, mit den untersuchten Oberheferassen von Sacch. cerevisiae darin übereinstimmt, daß er die Melibiose nicht vergäre.

Von der Gruppe „Frohberg obergärig" (welche also die Melibiose nicht, aber die Isomaltose vollständig vergärt) wurden 8 Rassen

untersucht; von den anderen 3 Gruppen: „Saaz obergärig“ (welche wie die vorige die Melibiose nicht, aber auch nicht die β-Isomaltose vergärt), „Saaz untergärig“ (welche die Melibiose, aber nicht die β-Isomaltose vergärt) und „Frohberg untergärig“ (welche die Melibiose und Isomaltose vollständig vergärt) wurde je 1 Rasse untersucht. Alfred Jörgensen (Kopenhagen).

Gosio, Ueber Links-Milchsäure bildende Vibrionen. [Aus dem hygienischen Institute der Universität zu Berlin]. (Archiv f. Hygiene. XXI. 1894. p. 114.)

In den Kreis der Untersuchung wurden gezogen: Vibrio Danubicus (Heider), Vibrio Dunbar, Vibrio Wernicke I, II und III, Vibrio Koch, Vibrio Massaua und Vibrio Calcutta (Cholera). Die Beschreibung der Methoden sind im Originale nachzusehen; das Resultat der Untersuchungen läßt sich in folgender Tabelle zusammenfassen.

Vibrio	Zucker-zersetzung in g	Zinksalz in g	Krystall-wasser %	Zinkoxyd %	Spezif. Drehung d. Zinksalzes	Freie Milchsäure in g
Danubicus	46,22	6,87	12,78	28,78	+7,54	4,43
Dunbar	52,15	8,73	13,07	28,93	+7,37	5,63
Wernicke I	62,68	4,226	12,8	28,8	+7,4	2,72
„ II	80,04	15,12	12,65	28,25	+7,29	9,75
„ III	28,14	1,988	13,14	28,38	+7,2	1,28
Koch (Fall aus Wittenberg)	71,09	14,18	12,83	28,98	+7,34	9,14
Calcutta-Cholera	72,83	14,08	13,16	28,87	+7,21	9,08
Massaua-Cholera	39,62	10,3	12,67	28,47	+7,45	6,64

Aus der Tabelle zeigt sich, daß in der Regel derjenige Vibrio, welcher mehr Zucker zersetzt, auch entsprechend mehr Milchsäure bildet und umgekehrt, was aber, wie Vibrio Wernicke I z. B. zeigt, nicht stets Geltung hat. Aus den Versuchen des Verf.'s geht weiter hervor, daß die Menge der gebildeten Milchsäure mit der Virulenz Hand in Hand geht. Aus der Thatsache, daß allen vom Verf. untersuchten Vibrionen die Eigenschaft zukommt, in zuckerhaltigen Peptonlösungen Linksmilchsäure und Alkohol zu bilden, schließt derselbe, daß sie mit dem Koch'schen Vibrio der asiatischen Cholera nahe verwandt oder identisch sind, wenn auch die Fähigkeit, Linksmilchsäure zu bilden, anderen unzweifelhaft von dem Kommabacillus verschiedenen Vibrionen eigen ist. (Diese Schlußfolgerung dürfte doch wohl zu weit gehen. Ref.) Gerlach (Wiesbaden).

Frank, A. B., Die Krankheiten der Pflanzen. Ein Handbuch für Land- und Forstwirte, Gärtner, Gartenfreunde und Botaniker. Band I: Die durch anorganische Einflüsse hervorgerufenen Krankheiten. Mit 34 in den Text gedruckten Holzschnitten. Breslau (E. Trewendt) 1894. 6 Mk.

Schon lange fühlte der Fachmann wie auch der Land- und Forstwirt das dringende Bedürfnis nach einem Werke, das in übersichtlicher Form das weite, unaufhörlich sich ausdehnende Gebiet der Pflanzen-

krankheiten entsprechend dem neuesten Standpunkte der phytopathologischen Wissenschaft behandelte. Wie alle naturwissenschaftlichen Forschungszweige, so schreitet auch die Wissenschaft von den Krankheitserscheinungen der Pflanzen in raschem Tempo vorwärts. Dazu kommt, daß man bei der großen Aufmerksamkeit, die man heute auf Grund der praktisch werdenden Ergebnisse wissenschaftlicher Forschung allgemein den Krankheitserscheinungen der Pflanzen, namentlich der für Land-, Forst- und Gartenwirtschaft so wichtigen Kulturgewächse, zuwendet, immer wieder auf neue Ursachen der Erkrankung derselben stößt.

Das vorliegende Handbuch der Pflanzenkrankheiten hat sich nun zur Aufgabe gestellt, alle bisher entdeckten und untersuchten Krankheiten nicht nur der Kulturgewächse, sondern auch der wildwachsenden Pflanzen kritisch zu behandeln, es soll daher möglichst alle litterarischen Erscheinungen auf diesem Gebiete bis zur Gegenwart berücksichtigen. Dadurch ist das Buch besonders geeignet, den fühlbaren Mangel eines zeitgemäßen und wissenschaftlichen Handbuchs der Pflanzenkrankheiten zu beseitigen.

Die neue Auflage des Werkes wird wie ihre Vorgängerin in drei Bänden erscheinen.

Im ersten bereits uns vorliegenden Bande behandelt der Autor die durch anorganische Einflüsse hervorgerufenen Krankheiten. Nach einer allgemeinen Einführung in die Lehre von den Pflanzenkrankheiten, ihre Geschichte und Litteratur werden zunächst die Wirkungen des Raummangels auf den vegetabilischen Organismus erörtert. Daran schließt sich dann ein ausführlicher Abschnitt über die Störung der Lebensthätigkeit der Pflanzen infolge von Verwundungen und die Reaktionen der Pflanzen gegen dieselben. Es werden an dieser Stelle weiterhin die Schutzvorkehrungen, Heilungen und Reproduktionen an den Wunden einer eingehenden Betrachtung unterzogen, desgleichen die verschiedenen Verwundungsarten mit einem Schlußkapitel über die Behandlung der Wunden.

In einem dritten größeren Abschnitt beschäftigt sich der Autor mit den durch atmosphärische Einflüsse verursachten Krankheiten. Er bespricht hier den Einfluss des Lichts und der Temperatur, untersucht die wichtigen Beziehungen der Niederschlagsmengen zum Wachstum der Pflanzen und erörtert schließlich die Wirkungen von Sturm und Blitzschlag auf dieselben.

Einen gewaltigen Einfluß auf das Gedeihen der Pflanzen üben auch die verschiedenen pedologischen Faktoren aus. Auch sie werden in dem uns vorliegenden Bande ausführlich und kritisch beleuchtet. So geht unter anderem der Verfasser hier auf die Wichtigkeit einer zweckmäßigen Zusammensetzung des Bodens an wirksamen Pflanzennährstoffen ein. An dieser Stelle berichtet er ferner über jene eigenartigen symbiotischen Verhältnisse zwischen höheren Pflanzen und Pilzen, über die mykorhizenbildenden Pflanzen, über die Wurzelanschwellungen der Erlen, Elaeagnaceen und Myriaceen und endlich über die sog. Wurzelknöllchen der Leguminosen.

Zum Schlusse dieses ersten Bandes seines Werkes bringt der Verfasser noch einen Abschnitt über die Erkrankungen infolge der

Einwirkung verschiedener Stoffe, auf die wir hier nicht weiter eingehen wollen.

Im Anschluss daran sei noch bemerkt, daß die Ausführungen des Werkes häufig durch entsprechende Holzschnitte illustriert werden. So führt uns der Verfasser beispielsweise den Einfluss des Lichtmangels auf den Wachstumsprozeß von Phaseolus nanus in drei sehr charakteristischen Abbildungen vor Augen.

Die kurzen Andeutungen über den Inhalt des vorliegenden Bandes zeigen bereits, wie reichhaltig der Stoff ist, der darin einer kritischen Behandlung unterzogen wurde.

Dr. Bruhne (Halle a. S.).

Krüger, F., Die bis jetzt gemachten Beobachtungen über Frank's neuen Rübenpilz Phoma Betae. (Zeitschr. für Pflanzenkrankheiten. Bd. IV. Heft 1. 1894. p. 13—20. Mit einer von Abbildungen begleiteten Nachschrift der Redaktion d. Zeitschr. f. Pflanzenkrankheiten (**Sorauer**).)

Die beiden auf Rüben von Phoma Betae hervorgerufenen Krankheitserscheinungen (Herzfäule und Wurzelbrand) wurden von Frank sowie Verf. im Verlaufe der letzten Jahre konstatiert und a. a. O. ausführlicher beschrieben; Verf. verbreitet sich hier insbesondere über die letztere der beiden Erkrankungen und die etwaigen zur Bekämpfung des Pilzes zu ergreifenden Maßregeln.

Von den Blättern geht derselbe auf den Rübenkörper über, wo mit dem Eindringen der mikroskopisch leicht nachweisbaren Pilzfäden eine charakteristische Bräunung sichtbar wird. Aeußerlich unterscheidet sich die Erscheinung in nichts von den anderweitigen unter der Bezeichnung „Wurzelbrand“, „schwarze Beine“, „schwarzer Zwirn“, am hypokotylen Gliede junger Keimpflanzen auftretenden Erkrankungen. Kulturversuche mit den absterbenden Teilen ergeben alsbald die charakteristischen Früchte, woraus die Anwesenheit dieses Pilzes folgt. Eine größere Zahl vom Verf. untersuchter, aus Pommern, Posen, Schlesien und der Mark stammender wurzelbrandiger Pflanzenproben ergaben so in $^3/_4$ der Fälle das genannte Resultat.

Leicht erkennbar wird der Pilz durch die von Frank beschriebenen Früchte (Pykniden), flaschenförmigen, reichlich sporenerzeugenden Gebilden, deren Inhalt infolge von Wasseraufnahme wurstförmig durch den spitzenständigen Porus herausgepreßt wird. Dem unbewaffneten Auge erscheinen sie als kleine, schwärzlich-braune Pünktchen. Die Sporenkeimung liefert nach Verf. nicht den üblichen Keimschlauch, sondern erfolgt in etwas abweichender, hier aber nicht ausführlich zu berücksichtigender Weise, und erst nach geraumer Zeit kommt es zur Bildung des normalen Mycels, wie an Kulturen im hängenden Tropfen (Pflaumendekokt) verfolgt wurde. Die ursächliche Beziehung des Pilzes zur Krankheit ergiebt sich aus dem Gelingen von Infektionsversuchen, für welche Rübenstücke, Rübensamen und ausgewachsene Rübenpflanzen benutzt wurden. In allen Fällen gelang die Uebertragung, so daß unter den richtigen Bedingungen nach 10—15 Tagen auch Pyknidenbildung eintrat. Phomamycel und dann auftretende Fäulniserscheinungen ließen sich

besonders gut an denjenigen Rüben verfolgen, zwischen deren Herzblätter einige Sporen gebracht waren, während die Rübenwurzel selbst durch Korkbildung dem Weiterdringen nicht selten Widerstand entgegensetzte. Darauf ist möglicherweise auch das teilweise Mißlingen ähnlicher Infektionsversuche mit Wurzelstücken und Knollen anderer Pflanzen (Kohlrüben, Möhren, Kartoffeln, Topinambur) zurückzuführen, wennschon auch hier die Entwickelung bis zu einem gewissen Grade erfolgte. Uebertragung auf lebende Pflanzen gelang nur bei der Brunnenkresse, während Kohlarten, weißer Senf, Raps und Leindotter negative Resultate lieferten. Sehr geeignet für Kultur des Pilzes ist Pflaumendekokt.

Weiterhin hebt Verf. als für das Gedeihen des Pilzes sehr wesentlich die Witterungsverhältnisse und Bodenbeschaffenheit hervor. Bei Herzfäule mit Wurzelbrand wurde mehrfach die Begünstigung durch kühles und trockenes Wetter konstatiert, während andererseits warme, feuchte Witterung seiner Entwickelung oft hinderlich ist; es war das von Frank dahin erklärt worden, daß bei der Dürrperiode die Rübenvegetation beeinträchtigt wird und somit der Pilz vielleicht einen Vorsprung gewinnt. Anhaltendes Regenwetter ist jedoch dem Umsichgreifen des Pilzes sehr förderlich, wie das auch mit mehrfachen Beobachtungen aus der Praxis übereinstimmt. Eine kräftige, den Rüben besonders zusagende Düngung hätte möglicherweise in der Bekämpfung des Pilzes einen gewissen Erfolg, obschon sie allein nicht ausreicht, zumal nach Frank's Versuchen die Sporen sich mehrere Jahre im Boden keimfähig erhalten können. Zu vermeiden wären jedenfalls zuckerhaltige Düngstoffe.

In einigen Fällen hat sich ein Zusammenhang frisch verwendeten Scheidekalkes und stark auftretendem Phoma erweisen lassen, obschon zur Erzeugung der Krankheit jener Kalk nicht gerade notwendig ist; möglicherweise war derselbe auch Ueberträger des Infektionsstoffes. Jedenfalls vermag die einmal infizierte Erde wieder Erkrankungen hervorzurufen, wie hierauf bezügliche Versuche darthaten. Gegen Desinfektionsmittel sind die Sporen relativ widerstandsfähig, so daß sichere Tötung erst nach 20-stündiger Einwirkung einer 4-proz. Kupferlösung gelang. Sublimatlösung (1:2000 und 1:5000) tötet sie nach 5—8 Stunden ab, und durch beide Mittel wird die Keimkraft der Samen nicht beeinträchtigt. Versuche im Freien wurden mit 2-proz. Kupferkalklösung — bei 48-stündigem Einquellen der Samen — angestellt, jedoch bisher mit unsicherem Erfolge.

Wirksamer scheint 1-proz. Karbolsäure zu sein, die bei 16-stündiger Einwirkung die Phomasporen sicher zerstört, und einige Male auch bereits in größerem Maßstabe (Feldversuch) mit Erfolg benutzt wurde, wennschon auch sie nicht stets das Auftreten der Krankheit mit Bestimmtheit ausschließt. Weitere Experimente sind jedenfalls notwendig. Uebrigens soll die Karbolsäure in der genannten Konzentration nach bezüglichen Versuchen Wimmer's bei vorsichtiger Handhabung die Keimfähigkeit der Rübensamen

überhaupt nicht, die Keimungsenergie dagegen nur um ein Geringes herabdrücken, so daß Verf. diesem Vorbeugungsmittel eine gewisse Bedeutung glaubt zuerkennen zu dürfen. Das um so mehr, als der Pilz thatsächlich ein gefährlicher Feind des Rübenbauers ist, da an manchen Stellen bis zu 80 Proz. der Keimpflanzen vernichtet wurden und in einigen Fällen die Herzfäule einen Ausfall von 100—150 Centner pro Morgen ergeben haben soll.

In einer Nachschrift giebt die Redaktion der „Zeitschr. für Pflanzenkrankheiten" eine von anschaulichen Abbildungen (nach Frank in d. Deutsch. Landw. Presse. 1893) begleitete kurze Beschreibung einer kranken Rübe und der charakteristischen Pycnidenfrüchte; gleichzeitig wird von Sorauer darauf aufmerksam gemacht, daß blattkranke Rüben, wie sie von seiten der Landwirte mehrfach zur Untersuchung eingesandt wurden, gelegentlich auch von einem zweiten Parasiten — neben dem ersteren oder ausschließlich — befallen waren; es ist dies das seinerzeit von Frank als Pilz der Herzfäule beschriebene Sporodesmium (Clasterosporium) putrefaciens, das also nicht mit jenem zu verwechseln ist.

Wehmer (Hannover).

Vuillemin, Paul, Sur une maladie myco-bactérienne du Tricholoma terreum. (Comptes Rendus Acad. d. Sc. 1894. 5. Nov. p. 811.)

Der Autor bemerkte in den Pinienwäldern der Umgebung von Nancy eine große Anzahl deformierter Tricholoma terreum, worunter sich auch einige verkrüppelte Exemplare vorfanden. Smith beobachtete bereits dieselbe Gattung Pilze ohne Hut.

Er begann die Ursache der Veränderung dieses genießbaren Pilzes zu studieren, dessen Inneres sehr leicht in den Zustand der Fäulnis übergeht, während er sein äußeres gesundes Aussehen beibehält.

Die gesammelten und entsprechend feucht gehaltenen Exemplare bedeckten sich nach 24 Stunden mit einem rosafarbigen Schimmel, der Mycogone rosea. Eine derselben nahestehende Species, die Mycogone perniciosa, wurde von Constantin und Dufour als Krankheitsursache der künstlich gezogenen Pilze angegeben.

Die Fäden des Myceliums führen sich durch die Gewebe des Tricholoma ein und sind leicht zu erkennen. Sie ernähren sich als Parasiten auf Kosten der sie umhüllenden Gewebe, ohne daß jedoch eine Durchdringung derselben erfolgt.

Jedoch kann dieser Parasit die so sichtbare Erweichung der Gewebe des Tricholoma nicht erklären, — der Schimmel wirkt nur deformierend und sterilisierend. Die Erweichung ist das Werk der in das Innere des Pilzes eingeführten Bakterien, deren Einführung durch die Fäden der Mycogone stattfindet.

Man findet im Innern Gruppen (Zooglöen) unbeweglicher Bakterien, die 2,5 μ bis 3,5 μ lang und 0,5 μ breit sind; dieselben sind an den parasitären Fäden festgeheftet.

Im Falle, daß sich keine Bakterien vorfinden, zeigt der deformierte Pilz ein geschlossenes und festes Gewebe; giebt jedoch die Frucht dem Fingerdrucke nach, dann sind die Bakterien in überreicher Entwickelung vorhanden und das Innere ist im Zustande voller Fäulnis.

Dies zusammengefaßt, ergiebt, daß die Krankheit des Tricholoma terreum das Resultat einer parasitären Vereinigung zwischen der Mycogone rosea und den Bakterien ist, wovon erstere den Weg den letzteren eröffnet.

Die Mycogone deformiert die Frucht und macht sie mehr oder weniger steril, die Bakterien indessen beschleunigen deren Zersetzung.

Charles Lepierre (Coimbra, Portugal).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

DR. WILHELM WINDISCH.

Allgemeines über Bakterien und andere Mikroorganismen.

Sommaruga, E. v., Ueber Stoffwechselprodukte von Mikroorganismen. III. (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XVIII. 1894. p. 441.)

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Barbier, E., Manualetto per la preparazione e l'analisi chimica de materiale di medicatura antisettica. Siena 1894. 1 l.

Czapski, S., Ueber einen neuen Zeichenapparat und die Konstruktionen von Zeichenapparaten im Allgemeinen. (Zeitschr. f. wissensch. Mikroskopie. Bd. XI. 1894. p. 289.)

Hildebrand, H. E., Die Differential-Objektführer. (Zeitschr. f. wissensch. Mikroskopie. Bd. XI. 1894. p. 304.)

Itzerott, G. u. Niemann, F., Mikrophotographischer Atlas der Bakterienkunde. Mit 126 mikrophotographischen Abbildungen in Lichtdruck auf 21 Tafeln. Lex.-8°. Leipzig (Joh. Ambros. Barth) 1894. 15 M.

Lavdowsky, M., Ueber einen mikrophotographischen Apparat. (Zeitschr. f. wissensch. Mikroskopie. Bd. XI. 1894. p. 313.)

Schaudinn, F., Ein Mikroaquarium, welches auch zur Paraffineinbettung für kleine Objekte benutzt werden kann. (Zeitschr. f. wissensch. Mikroskopie. Bd. XI. 1894. p. 326.)

Schoebel, E., Vorschrift zu einer rationellen Signierung von Präparaten und Reagentien. (Zeitschr. f. wissensch. Mikroskopie. Bd. XI. 1894. p. 331.)

Stein, St. v., Intrahydraulischer Hochdruck als eine neue Forschungsmethode. (Zeitschr. f. wissensch. Mikroskopie. Bd. XI. 1894. p. 321.)

Zimmermann, A., Das Mikroskop. Ein Leitfaden der wissenschaftlichen Mikroskopie. 8°. 334 p. mit 231 Fig. im Texte. Wien (Deuticke) 1894.

Systematik, Morphologie und Biologie der Bakterien und anderer Mikroorganismen.

Roth, E., Unterschiede zwischen dem tierischen Parasiten-Ei und pflanzlichen Sporen. (Die Natur. Jahrg. XLIII. No. 12.)

Schneider, Paul, Die Bedeutung der Bakterienfarbstoffe für die Unterscheidung der Arten. [Dissertation.] Basel 1894.

Strasburger, Ueber periodische Reduktion der Chromosomenzahl im Entwickelungsgang der Organismen. [Schluß.] (Biolog. Centralbl. Bd. XIV. No. 24. p. 817, 849.)

Allgemeine Gärungsphysiologie.

Bertrand u. **Mallèvre**, Ueber Pektase und die Pektingärung. (Compt. rend. T. CXIX. 1894. No. 24. p. 94.)
Lintner, C. J., Ueber die Invertierung von Maltose und Isomaltose durch die Hefe. (Zeitschr. f. d. gesamte Brauwesen. Bd. XVII. 1894. p. 414.)
Munsche, Albert, Ueber die Vergärbarkeit konsumreifer Biere mittels der Hefen Saaz und Frohberg. (Wochenschr. f. Brauerei. Jahrg. XII. 1895. No. 3. p. 45.)
Schnell, Erfahrungen bei der Hefereinzucht unter Verwendung reingezüchteter Hefen zur Weinvergärung. (Zeitschr. f. angewandte Chemie. 1894. p. 417.)
Will, H., Vergleichende Untersuchungen an vier untergärigen Arten von Bierhefe. (Zeitschr. f. d. gesamte Brauwesen. Bd. XVIII. 1895. p. 1.)

Weinbereitung.

Reusch, Fr. J., Eine neue Weinkrankheit. (Pharmazeut. Ztg. Bd. XXXVIII. 1894. p. 864.)

Brauerei.

Wichmann, Heinrich, Neuere Hefereinzuchtapparate. (Mitteil. d. österr. Versuchsstation f. Brauerei u. Mälzerei in Wien. 1894. Heft 6. 13 p. mit 3 Fig.)

Molkerei.

Christensen, Reinkulturen als Säureerwecker. (Milchztg. 1895. No. 1. p. 10.)
Conn, H. W., Das Reifen des Rahmes durch künstliche Bakterienkulturen. (VI. Annal. Rep. Storrs agric. exp. Stat. Connecticut, durch Milchztg. Bd. XXIII. 1894. p. 623—624.)
Schäfer's Lehrbuch der Milchwirtschaft. 5. Aufl. Neu bearb. von Dr. H. Sieglin, Prof. a. d. kgl. württemb. landw. Akademie Hohenheim und Vorstand des Molkerei-Institutes daselbst. Mit 146 in den Text gedruckten Abbildgn. Stuttgart (Eugen Ulmer) 1895. 3,50 M.

Nahrungs- und Genußmittel, Konserven etc.

Bendix, Zur Frage der Kinderernährung: Ueber die Verdaulichkeit der sterilisierten und unsterilisierten Milch. (Jahrb. f. Kinderheilk. Bd. XXXVIII. Heft 4, 1894. durch Hygien. Rundsch. Bd. IV. 1894. p. 996—997.)
Niemann, F., Mitteilung über einen gelegentlichen Befund bei Untersuchungen von sterilisierten Milchproben. (Hygien. Rundsch. Bd. IV. 1894. p. 1012—1013.)
Wender, Neumann, Kohlensäure als Konservierungsmittel. (Zeitschr. f. d. gesamte Kohlensäure-Industrie. Bd. I. 1895. No. 1. p. 3.)

Boden.

Gonnermann, M., Die Bakterien in den Wurzelknöllchen der Leguminosen. (Landw. Jahrb. Bd. XXIII. 1894. p. 649.)
Günther, Ueber einen neuen im Erdboden gefundenen Kommabacillus. (Hygien. Rundsch. 1894. p. 721.)

Fäulnis.

Vincent, H., Ueber die Desinfektion von Fäkalien. (Comptes rendus. Bd. CXIX. 1894. p. 965.)

Durch Parasiten verursachte Krankheiten der Pflanzen.

Bessey, Charles E., The homologies of the Uredineae (The Rusts) Illustr. (The American Naturalist. Vol. XXVIII. No. 336. p. 989.)
Boname, Zuckerrohrkrankheit in Mauritius. (Sugar Cane. Bd. XXVI. 1894. p. 621.)
Cavazza, D., Intorno all' ufficio dei vitigni americani puri e dei loro ibridi nella defesa antifillosserica dei nostri vigneti. Alessandria 1894.

Del Guercio, G. e **Baroni, E.**, La gommosi bacillare delle viti Malvasia in Italia. Ricerche preliminari. (Nuovi Giorn. bot. ital. 1894. p. 221.)
Die Bakterien als Pflanzenfeinde. (Zeitschr. f. Naturwissensch. Bd. LXVII. p. 280.)
Henning, E., Några ord om olika predisposition för rost å säd. 8°. 13 p. Stockholm 1894.
Krüger, W., Kurze Charakteristik einiger niederer Organismen im Saftfluß der Laubbäume. (Hedwigia. 1894. Heft 5. p. 241—266.)
Perroncito, F., Studî sulla fillossera. (Atti d. Congr. nazion. — Alessandria 1893.) Alessandria 1894.
Prunet, A., Le pourridié de la vigne. (Revue de viticulture. T. II. 1894. No. 45. p. 403.)
Vuillemin, P., Association parasitaire de l'Aecidium punctatum et du Plasmopara pygmaea chez l'Anemone ranunculoides. (Bullet. de la soc. botan. de France. 1894. p. 442.)
Weny, John, Das Verhalten einiger amerikanischer Rebsorten gegen Phylloxera im Thonboden. (Die Weinlaube. 1895. No. 1. p. 4.)

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien.

Bernegau, L., Borsalicylat, ein in Wasser lösliches, ungiftiges Antiseptikum. (Apothekerzeitung. Bd. IX. 1894. p. 876—877.)
Gärtner, A., Torfmull als Desinfektionsmittel von Fäkalien nebst Bemerkungen über Kotdesinfektion im allgemeinen, über Tonnen- und Grubensystem, sowie über Klosetventilation. (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XVIII. 1894. p. 263—317.)
Wallé, Salaktol. (Pharmazeut. Centralhalle. Bd. XXXV. 1894. p. 671—672.)
Windisch, W., Sterilisierung von Kellern, Tennen, Fässern etc. mittels Dämpfen von Formaldehyd, sowie das Verhalten des Formaldehyds gegen Hefen und Bakterien. (Wochenschr. f. Brauerei. Bd. XI. 1894. p. 1531.)

Inhalt.

Originalmitteilungen.

Zusammenfassende Uebersichten.

Referate.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

CENTRALBLATT
für
Bakteriologie und Parasitenkunde.

Zweite Abteilung:
Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie und Pflanzenpathologie.

In Verbindung mit
Prof. Dr. **Adametz** in Krakau, Dr. W. M. **Beyerinck** in Delft, **Prof.** Dr. **A. B. Frank** in Berlin, Dr. **v. Freudenreich** in Bern, Prof. Dr. **Emil Chr. Hansen** in Kopenhagen, Dr. **Lindner** in Berlin, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Prof. Dr. **Stutzer** in Bonn, Privatdocent Dr. **Wehmer** in Hannover, Dr. **Weigmann** in Kiel, Dr. **Wilfarth** in Bernburg und Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg
herausgegeben von
Dr. O. Uhlworm in Cassel.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

I. Band. Jena, den 6. Februar 1895. **No. 3.**

Preis für den Band (26 Nummern) 16 Mark.

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde" richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige ***Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.***

Original-Mittheilungen.

Die im Miste vorkommenden Bakterien und deren physiologische Rolle bei der Zersetzung desselben.

[Aus dem Laboratorium der bakteriologisch-agronomischen Station bei der Kaiserlich-Russischen Akklimatisationsgesellschaft für Pflanzen und Tiere zu Moskau.]

Von
S. A. Severin,
Kandidaten der Agronomie.

Der Mist stellt bekanntlich einen an verschiedenartigen mineralischen und organischen Substanzen überaus reichen Dünger vor

und ist daher ein für die Vegetation von Mikroorganismen ganz besonders geeignetes Substrat. Es werden denn auch alle die vielfältigen Prozesse, welche im Miste vor sich gehen und eine tiefgehende Zersetzung dessen anfänglicher Bestandteile bewirken, der Lebensthätigkeit von Mikroorganismen zugeschrieben; wie beschaffen aber diese Mikroorganismen sind, mit anderen Worten, wie beschaffen die bakterielle Ansiedelung des Mistes ist und welche Rolle im organischen Leben des Mistes jedem einzelnen Gliede zukommt, dies sind Fragen, zu deren Lösung bei dem gegenwärtigen Stande unseres Wissens uns nur sehr dürftige Daten zur Verfügung stehen.

Soviel mir bewußt, hat nur Guyon, bei seinen Untersuchungen über den Pferdemist, mikroskopische Untersuchungen und Züchtungen von Reinkulturen unternommen, während andere Forscher, wie Deguerin, Münz, Schlesing Vater und Sohn, Souly bei ihren Studien über die bei Zersetzung des Mistes stattfindenden Prozesse diese hauptsächlich nur von der chemischen Seite in Angriff genommen haben, indem sie die Rolle der Mikroorganismen als ein wichtiges ätiologisches Moment feststellten, aber auf ein eingehendes Studium darüber, was für Mikrobien hierbei thätig seien und was für eine Rolle jedem derselben zukomme, verzichteten. In Betracht dessen halte ich es nicht für überflüssig, das unbedeutende Material über die Frage von der bakteriellen Besiedelung des Mistes und deren physiologische Rolle bei der Zersetzung des Mistes, welches ich besitze, hier vorzuführen.

Gegenstand meiner Studien war Pferdemist, welchen ich aus verschiedenen Ställen und Misthaufen nahm, im Alter von nicht mehr als einem Monate, eines der Muster hatte übrigens ein Alter von 3 Monaten. Zuerst wurde der Mist mikroskopisch untersucht, entweder direkt, d. h. Mistteilchen wurden in einem Tropfen Wasser unter dem Mikroskope betrachtet, oder mittelst des hängenden Tropfens. Ohne auf eine detaillierte Beschreibung der mikroskopischen Bilder für alle untersuchten Muster einzugehen, will ich nur erwähnen, daß die Bacillenform in der bakteriellen Ansiedelung des Pferdemistes die überwiegende ist — Stäbchen verschiedener Länge und Breite, mit verschiedenartig abgerundeten Enden —, obwohl übrigens lange Bacillen bei der direkten Untersuchung nur in geringer Anzahl gefunden werden; lange Fäden in mehr oder weniger zahlreicher Menge entwickeln sich nur im hängenden Bouillontropfen, nach Verlauf einer gewissen Zeit. Die Kokkenform kommt verhältnismäßig seltener vor, nur in dem 3-monatlichen, stark abgelagerten Miste war sie die überwiegende. Strepto- und Staphylokokken sowie Spiralfäden werden sehr selten gefunden. Hefenpilze und Sarcinen (in Form von Paketen) sind gar nicht vorgekommen. Unter anderen verdient eines der untersuchten Muster besondere Aufmerksamkeit, insofern es eine große Menge von Stäbchen enthielt, welche sich bei der Doppelfärbung nach Ziehl rot färbten. Der betreffende Mist, im Alter von 3 Monaten, stammte aus dem an den Kliniken der Moskauer Universität befindlichen Stalle.

Das erwähnte Verhalten der besagten Stäbchen der Doppel-

färbung gegenüber nähert sie den Tuberkel- und Leprabacillen, denen solch eine Färbung nach Ziehl eigenartig ist. Morphologisch erscheinen diese Stäbchen dick und größtenteils leicht gekrümmt, stellenweise aber findet man gerade und dünnere Stäbchen, welche man von den Tuberkelbacillen durchaus nicht unterscheiden kann; was ihre Lagerung anbetrifft, so finden sie sich entweder einzeln oder mehrere mit einander verflochten, zuweilen selbst in ziemlich großen, eng zusammenhängenden Gruppen, in Form von Zooglöen. Obwohl es mir nicht gelungen ist, eine Reinkultur des beobachteten Bacillus zu züchten, so bleibt nichtsdestoweniger die Beobachtung höchst interessant. Sind diese Stäbchen in der That Tuberkelbacillen, so ist die Konstatierung derselben im Miste ein neuer Beitrag zur Geschichte der Vegetation dieses so wichtigen Mikroorganismus und in Zusammenhang damit ein Hinweis darauf, daß der Mist ein Medium vorstellt, welches als Zufluchtsort eines so gefährlichen Feindes der Menschheit dienen könnte, wie der B. tuberculosis es ist; sind aber die uns interessierenden Stäbchen vegetative Formen eines anderen Mikroben, so würde es der Zahl nach der dritte Mikroorganismus sein, welcher durch das eigenartige Verhalten zu der Doppelfärbung nach Ziehl charakterisiert ist und müßte in diesem Falle die Bedeutung der auf die Färbung allein basierten Methoden, deren man sich zum Nachweise von Tuberkel-bacillen in solchen Medien, wie die Milch bedient, von selbst fallen. Ich bin geneigt, zu denken, daß die hier beschriebenen Stäbchen keine Tuberkelbacillen sind, wobei ich aber diese meine Meinung nur auf das mikroskopische Bild begründe. Es fanden sich nämlich an verschiedenen Stellen der von mir betrachteten Präparate außer den kurzen Stäbchen auch lange, rot gefärbte Fäden; jeder dieser Fäden erscheint grob geschlängelt, im Zustande ausgeprägter arthrosporer Teilung, wobei die einzelnen Glieder ziemlich weit von einander abstehen und größtenteils nach Art eines Kommas gebogen sind. Der Tuberkelbacillus besitzt bekanntlich solche Formen nicht und denke ich daher, daß die beobachteten Stäbchen keine Tuberkelbacillen sind.

Da die einfache mikroskopische Untersuchung, sowie die Beobachtungen im hängenden Tropfen selbstverständlich nicht imstande sind, einen Begriff von dem ganzen Vegetationscyklus der Mikroorganismen zu geben, welche das gegebene Muster bewohnen, indem sich ja die dabei erhaltenen Resultate nur auf den Zeitpunkt beziehen, an welchem die Proben zur Untersuchung genommen wurden, beschloß ich, dieselben durch eine mehr systematische Beobachtung zu ergänzen, welche an ein und derselben Mistportion während einer Dauer von fast zwei Monaten geführt wurde, wenn auch unter etwas anderen Bedingungen, nämlich an verackertem Miste.

Diese Beobachtungen wurden am 4. Juni 1893 in einem Landgute des Kursker Gouvernements in folgender Anordnung begonnen: An einer hochgelegenen Stelle, deren Boden aus mit Thonerde untermischter Ackerkrume bestand, wurden drei Beete 9, 18 und 27 cm tief gegraben, ebenso tief reichte auch der in den Boden verackerte Pferdemist. Die Beete erfuhren keine weitere Bearbeitung, nur daß

die Erde sofort nach Verackerung des Mistes oberflächlich gelockert und dann die von Zeit zu Zeit erscheinenden Vegetationen entfernt wurden. Es wurde ganz frischer, 3—4-tägiger Mist genommen, welcher sehr feucht war und nur sehr wenig Stroh enthielt. Die mikroskopische Untersuchung erwies eine überaus große Mannigfaltigkeit von bacillären Formen, wobei aber lange Fäden nur in geringer Anzahl vorhanden waren, die Zahl der Kokkenformen — Kokken, Diplokokken und kurze, aus 4—6 Kokken bestehende Ketten — war verhältnismäßig unbedeutend, Sporenkulturen wurden ebenso in geringer Anzahl gefunden, mit einem Worte war in diesem Miste die Bacillenform im Zustande der Vegetation die überwiegende. Jeden dritten Tag wurden aus drei verschiedenen Tiefen kleine Portionen Mist, möglichst ohne Beimischung von Erde genommen und unmittelbar unter dem Mikroskope untersucht. Diese Beobachtungen wurden bis zum 30. Juli fortgesetzt, indem täglich die Lufttemperatur und die regnerischen Tage notiert wurden. Da der Sommer 1893 überaus regnerisch war, so waren Erde und Mist in allen drei Schichten immer feucht und trocknete der Boden nur dann und wann nach einer Reihe von warmen Tagen bis zur Tiefe von 5—10 cm aus. Im ganzen wurden während der Beobachtungsdauer 20 regnerische Tage notiert. Seit dem 10. Juli war eine merkliche Zersetzung des Mistes eingetreten, doch unterschied sich der Grad der Zersetzung in den drei Tiefen nur sehr wenig. Eine Beschreibung der mikroskopischen Bilder von Tag zu Tag wäre zu lang und wenig interessant; ich erlaube mir daher, hier nur den allgemeinen Charakter der Veränderungen vorzuführen, welche die bakteriellen Formen während der ganzen Beobachtungsperiode eingegangen sind.

1) Nach Verlauf von 2 Wochen nach Verackerung des Mistes erschien die bacilläre Form, welche bei der Verackerung in großer Anzahl vorhanden war, auf ein Minimum reduziert und erwiesen sich als überwiegende Form Mikrobakterien und Kokken; Mikrobakterien häufig in der 8-Form, Kokken einzeln oder als Diplokokken, die bacilläre Form, obwohl selten vorkommend, zeigte nichtsdestoweniger eine gewisse Vielartigkeit, Desmobakterien waren gar nicht vorhanden. Diese Morphologie der Mikroorganismen blieb bis zu den letzten Tagen der Beobachtung bestehen.

2) Sporen waren während der ganzen Periode in geringerer Anzahl vorhanden als vegetative Formen, von Zeit zu Zeit wurde ihre Zahl größer oder geringer.

3) Irgend welche Veränderung der vegetativen Formen und deren Zahlenverhältnisses zu den Sporen, welche man in Abhängigkeit von der Temperatur oder dem Feuchtigkeitsgrade stellen könnte, war nicht zu bemerken, da sowohl ersteres als auch letzteres sich nicht prägnant und ohne genügende Bestimmtheit äußerte.

4) Ebenso war auch kein Einfluß der Tiefe der Verackerung auf den Charakter der vegetativen Formen und deren Zahlenverhältnis zu den Sporen zu konstatieren.

5) Seit den ersten Tagen des Julimonates erschienen in den Präparaten Zooglöen aus Kokken und Mikrobakterien, welche sodann bis zu Ende der Beobachtungen gesehen wurden.

6) Spiral-, sarcineartige und Hefeformen wurden nie beobachtet.

Unter diesen sechs Beobachtungsresultaten verdienen drei eine besondere Aufmerksamkeit. Das erste konstatiert, daß sich im Miste, nachdem dieser in den Boden gelegt wird, die Zusammensetzung der bakteriellen Formen verändert; die Morphologie der bakteriellen Ansiedelung des Mistes ist nach Verlegung desselben in den Boden in verhältnismäßig kurzer Zeit eine wesentlich andere geworden. Ob diese Veränderung davon abhängt, daß unter Einfluß der neuen Existenzbedingungen an Stelle der früheren Mikroorganismen neue Arten aufgetreten sind oder ob es sich bloß um verschiedene Modifikationen derselben Mikroorganismen handelt, diese Frage ist wegen des Mangels an experimentellen Daten schwer zu beantworten. Das negativ ausgefallene vierte Resultat erscheint bis zu einem gewissen Grade überraschend. Es war nicht denkbar, daß der Mist in verschiedenen Tiefen keine Verschiedenheiten der bakteriellen Formen zeigen werde, denn es ist ja der mehr oder weniger freie Zugang der Luft einer der wichtigsten Faktoren, von welchen die Vegetation der oder jener Mikroorganismenarten abhängt. Indes hat sich der Einfluß dieses Momentes in unserem Versuche, soweit nach der Morphologie zu urteilen ist, durch nichts geäußert. Das fünfte Resultat endlich ist dadurch interessant, daß sich auch aus dem mikroskopischen Befunde die Periode feststellen läßt, wann die organische Substanz des Mistes eine tiefgehende Zerstörung zu erleiden anfängt. Es ist nämlich schon erwähnt worden, daß seit den ersten Tagen des Juli die Zersetzung des Mistes für das Auge bemerklich geworden war, diese Zeit nun fällt mit dem Auftreten von Zooglöen in den mikroskopischen Präparaten zusammen, d. h. solcher Formen, welche, wie man denken muß, den höchsten Energiegrad in der Lebensthätigkeit der bakteriellen Ansiedelung kennzeichnen.

Selbstverständlich entscheiden die mikroskopischen Untersuchungen allein die Frage über die bakterielle Ansiedelung des Mistes nicht, deshalb wurde außer diesen noch ein anderes Verfahren angewandt, nämlich die bakterielle Analyse, d. i. die Ausscheidung der einzelnen, die bakterielle Ansiedelung des Pferdemistes zusammenstellenden Arten auf Platten. Eine solche Analyse wurde an zwei Mustern von Mist unternommen; das eine wurde im Januar aus einem Stalle in einer Tiefe von 14—18 cm entnommen und war etwa einen Monat alt; das andere im April aus einem Haufen, der sich unter freiem Himmel befand, in einer Tiefe von etwas über ein Meter, ebenfalls im Alter von einem Monate. Beim Entnehmen der Muster wurden alle in der bakteriologischen Technik gebräuchlichen Kautelen eingehalten. Die Plattenkulturen wurden in Petri'schen Schalen gemacht. Als Nährmedien diente 10 Proz. Fleisch-Pepton-Gelatine und 1,5 Proz. Agar-Agar, sowie Gelatine und Agar-Agar von gleichem Prozentgehalte, mit einem Aufguß von Mist zubereitet.

Ich will hier auf die Beschreibung der von mir ausgeschiedenen und studierten Kulturen nicht eingehen und nur erwähnen, daß aus dem ersten Muster 9, aus dem zweiten 7 Mikroorganismen ausgeschieden wurden. Obgleich beide Miste von annähernd gleichem Alter waren, haben sich doch die verschiedenen Bedingungen ihres

Aufenthaltes, des einen im Stalle unter den Füßen der Pferde in einer Tiefe von 14—18 cm, des anderen in einem Haufen in einer Tiefe von 1 m an der Zusammensetzung ihrer bakteriellen Ansiedelung in bemerkbarer Weise geäußert; erstlich befindet sich kein einziger der aus dem einen Muster ausgeschiedenen Mikroorganismen gleichzeitig auch in dem anderen, zweitens gehören alle Mikroorganismen des ersten Musters zu der bacillären Form, nur einer bildete in der Bouillonkultur Vibrionen, während im zweiten nur drei bacilläre Formen konstatiert wurden, die übrigen vier Kokkenformen waren.

Selbstverständlich sind die Daten zweier Analysen, dazu nur unter den Bedingungen der Aërobrose ausgeführt, noch sehr weit von einer Entscheidung der Frage über die bakterielle Ansiedelung des Pferdemistes. Wenn man in Betracht zieht, daß der Mist in seiner chemischen Zusammensetzung, seinem Alter, den Bedingungen seines Aufenthaltes überaus große Verschiedenheit zeigt, so wird es begreiflich, daß sich in Abhängigkeit von allen diesen Umständen auch die bakterielle Ansiedelung der verschiedenen Miste verschieden modifizieren muß. Deshalb sind, um eine volle Vorstellung von der bakteriellen Ansiedelung des Mistes zu erhalten, Analysen von Misten aller möglichen Arten, sowohl was das Alter, als auch was die Existenzbedingungen an Ort und Stelle anbetrifft, erforderlich — eine breite Aufgabe, deren Lösung wohl nur in der Zukunft zu erwarten ist.

Indem ich nun zu den Versuchen übergehe, welche ich angestellt habe, um die Rolle der ausgeschiedenen Mikroorganismen in der Zerlegung des Mistes zu studieren, halte ich es für notwendig, zuerst eine Beschreibung der 3 Mikroorganismen, an welchen die ersten Versuche ausgeführt wurden, vorauszuschicken. Diese Mikroorganismen sind bei der ersten Analyse ausgeschieden worden.

Kultur No. 1. Aussehen der Kolonieen auf gewöhnlichem Agar-Agar[1]). Die Kolonieen erscheinen nach 24 Stunden bei 37—38° C. Die in der Tiefe des Substrates befindlichen Kolonieen sind braun gefärbt, kahnförmig, mit glatter Oberfläche, glatten ausgeprägten Konturen; bei weiterer Entwickelung bildet jede kahnförmige Kolonie je ein Bündel stachelförmiger, unregelmäßig gewundener Fortsätze, welche, von einer Seite der Kolonie auslaufend, nach und nach das ganze Kähnchen umfassen, sich aber nicht weit nach den Seiten hin verbreiten; an den oberflächlich gelegenen Kolonieen bilden sich um einen solchen Kahn herum helle Locken, und erinnert dieser im Stadium der vollen Entwickelung an eine Kolonie des B. anthracis; die Kolonieen haben eine trockene Konsistenz.

Aussehen der Kolonieen auf Gelatine. Die Kolonieen erscheinen bei gewöhnlicher Zimmertemperatur nach 2 Tagen. Die in der Tiefe gelegenen Kolonieen haben, bis sie die Gelatine noch nicht verflüssigt, das Aussehen eines braunen Knäuels aus unregelmäßig verflochten und sich nicht weit nach den Seiten hin verbreitenden Fäden, wobei die Fäden nur an der Peripherie unterscheidbar sind, der centrale

1) Das Wachstum der Kolonien wurde mit Hilfe des 2. Systems von Hartnack mit Oc. 3 beobachtet.

Teil des Knäuels dagegen nur als brauner Fleck erscheint. Die Kolonieen, um welche die Verflüssigung kaum begonnen hat, erscheinen in ihrem centralen Teile als unregelmäßige braune Flecken, von welchen nach allen Seiten helle Locken (wie auf Agar) mit gelblicher Färbung auslaufen, zuweilen ziehen sich einzelne dieser Locken ziemlich weit. Die Kolonieen endlich, mit merklicher Verflüssigung, stellen einen regelmäßigen Kreis vor, dessen Centrum hellbraun, uneben, wie zerrissen ist, von welchen nach allen Seiten hin eine förmliche Bürste hellgrauer, gerader Fäden ausläuft, welche bis zur Peripherie reichen und einen borstenförmigen Kontur bilden. Makroskopisch sind die Kolonieen, welche noch keine Verflüssigung begonnen haben, rund, weiß, undurchsichtig; bei begonnener Verflüssigung erscheinen sie als runde, trübe Flecken.

Die Strichkultur erscheint auf gewöhnlichem Agar nach einem Tage bei 37—38° C; der Strich ist matt weiß, trocken, breit, doch nicht dick, an den Rändern etwas haarförmig.

Der Strich auf Mist-Agar hat dasselbe Aussehen, ist aber weniger üppig.

Die Stichkultur auf Gelatine erscheint nach 24 Stunden bei gewöhnlicher Temperatur, der Stich ist fein, durchsichtig, weiß, mit feinzackigen Rändern; nach 2 Tagen laufen vom Stiche sehr kleine, kurze Seitenfortsätze aus; an der Oberfläche der Gelatine beginnt um die Stichstelle herum die Verflüssigung als zarter, runder, trüber Flecken; nach 3 Tagen bildet sich ein Schälchen; am 4. Tage verflüssigt sich die Oberfläche der Gelatine in toto und geht die weitere Verflüssigung schichtweise von oben nach unten; an der Oberfläche bildet sich eine zarte, glatte, weißliche Membran; die verflüssigte Gelatine ist durchsichtig. Was die erwähnten Seitenfortsätze anbetrifft, so entwickeln sich dieselben bei einigen Kulturen ziemlich lang, an anderen bleiben sie die ganze Zeit über kurz. Der Stich in Mistgelatine hat dieselbe Form, nur geht die Verflüssigung rascher vor sich und sind die Seitenfortsätze immer lang.

In Bouillonkulturen wird die Bouillon nach Verlauf von 24 Stunden bei 37—38° C sehr trübe, beim Schütteln steigen vom Boden aus Flocken und zähe Fäden des Kulturniederschlags auf. Unter dem Mikroskope findet man Desmobakterien und eine kürzere Bacillenform. Die Länge der Glieder beträgt 1—3 μ, die Dicke etwa 1 μ [1]. Die Stäbchen haben abgerundete Enden, ihr Protoplasma ist größtenteils körnig, viele enthalten abgetrennte helle Räume, welche durch ihre Form an Sporen erinnern, in der That aber bildet die Bouillonkultur in den Matras Pasteur keine Endosporen, weder am ersten noch an den folgenden Tagen. An gefärbten Präparaten erscheint das Protoplasma sehr ungleichmäßig gefärbt — stellenweise intensiv, stellenweise schwach. Alle Stäbchen befinden sich in arthrosporer Teilung. Die Stäbchen, welche aus einer kleinen Zahl von Gliedern bestehen, sind gewöhnlich beweglich und erinnern durch ihre Be-

1) Alle Größenbestimmungen der Mikroorganismen wurden an lebenden Formen der Bouillonkultur ausgeführt, wobei nur die einzelnen Glieder der vegetativen Form gemessen wurden. Mikroskop Zeiß mit Apochromaten von 4—2—1,5 mm Focusabstand, Oculare compensator. 4—6—8; Mikrometer-Ocular 6.

wegung, welche oscillär, aber langsam und gleichmäßig ist, teilweise auch durch ihre Form an den B. Megaterium. Im hängenden Tropfen wächst nach Verlauf eines Tages bei 37—38° C die kurze baciliäre Form zu Desmobakterien aus und bildet die Mehrzahl der vegetativen Formen Endosporen. Die Sporen sind groß, etwa 1 μ, mehr zu dem einen Ende hin gelagert; solange sie noch in den vegetativen Formen eingeschlossen, sind die Sporen rund, die freien oval.

(Schluß folgt.)

Ueber Spirillum desulfuricans als Ursache von Sulfatreduction.

Von Dr. W. M. Beyerinck

in Delft.

Mit 4 Figuren.

(Schluß.)

Da das Ferment in meinen Rohkulturen, verglichen mit den gewöhnlichen Arten, immer nur in verschwindend geringen Mengen vorkommt, mußte zunächst ein Mittel ausfindig gemacht werden, um die Sulfidbakterien anzuhäufen. Dieses ist gut gelungen durch die Verwendung einer kleinen Vorrichtung, welche ich Trennungskölbchen nennen will und in Fig. 1 und 2 abgebildet habe[1]). Das Kölbchen bezweckt, aus einer gewöhnlichen Kultur, welche unter beschränktem Luftzutritte stattgefunden hat, die dabei zur Entwickelung gekommenen Anaërobien von der Hauptmasse der gleichzeitig gewachsenen Aërobien zu trennen, und beruht auf dem Umstande, daß die Bakterien gewöhnlich spezifisch schwerer sind, wie ihr Nährmedium, so daß sich nicht bewegende Formen[2]) ohne äußere Veranlassung keine Neigung zeigen, in einer vertikalen Flüssigkeitssäule sich aufwärts zu bewegen, wohl dagegen sich zu senken[3]). Das Kölbchen ist eine Modifikation des gewöhnlichen Gärungskölbchens und unterscheidet sich von letzterem durch den Besitz einer Ableitungsröhre, welche mit dem höchsten Punkte des Gasrohres in offener Verbindung steht. Dieses kann auf zwei Weisen erreicht werden, wie aus den Figuren 1 und 2 erhellt. In Fig. 2 befindet sich das Ableitungsrohr außerhalb des Kölbchens und endet in eine Kapillarspitze, welche bei vollständiger Anfüllung von Gasrohr und Ableitungsrohr, infolge der Oberflächenspannung, erst bei einigem Ueberdruck das Zurücksteigen oder das

1) Die Kölbchen wurden mir durch Dr. Rohrbeck in Berlin geliefert.

2) Ob überhaupt beweglich oder nicht, ist natürlich gleichgiltig.

3) Es giebt Bakterien, welche in Flüssigkeiten wachsen können von genau demselben spezifischen Gewicht, z. B. die Milchsäurefermente in Würzelösungen von 10° Balling kultiviert. Natürlich verteilen diese sich im Gärungskölbchen gleichmäßig über die ganze Flüssigkeit, auch im Gasrohre. Die Milchsäurebakterien sind aber fakultativ-anaërobische. Aërobienformen bleiben nach meiner Erfahrung, selbst in Malzwürze von 20° Balling, unterhalb einer scharfgezogenen Trennungslinie zu Boden des Gasrohres.

Auslaufen der Flüssigkeit ermöglicht und durch ihre Kleinheit den Sauerstoffzutritt genügend verhindert.

Das Kölbchen kann nur dann gebraucht werden, wenn darin keine Gasentwickelung stattfindet, weil anders die natürliche Trennung, welche die Bakterien von ungleichem Sauerstoffbedürfnis anstreben, verloren geht.

Kultiviert man in diesem Kölbchen in entsprechender Nährlösung ein Bakteriengemisch, worin Aërobien, Obligat- und Fakultativanaërobien vorkommen, so findet man nach einiger Zeit folgende Ver-

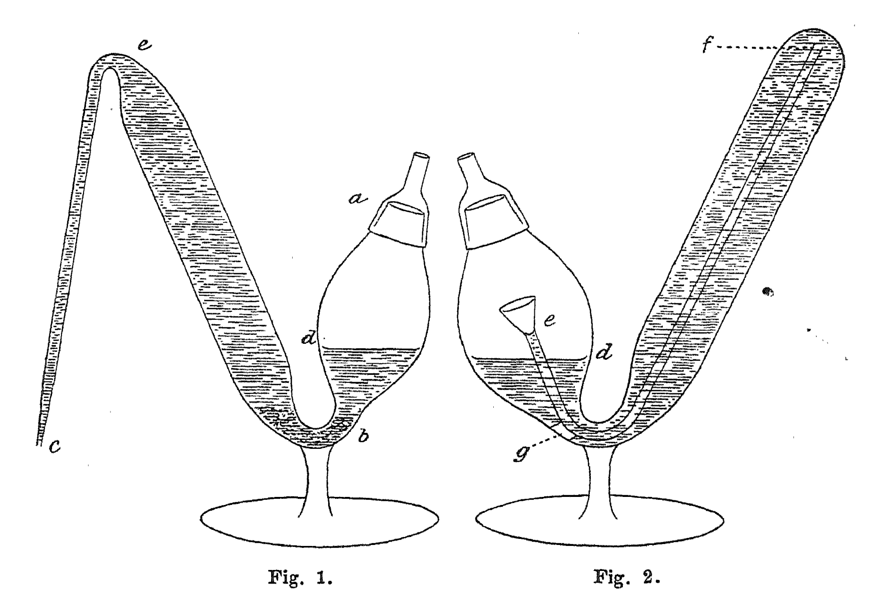


Fig. 1. Kölbchen für rohe Trennung von Anaërobien und Aërobien. Bei Sulfatreduktion wird die Schwefeleisenbildung zuerst sichtbar im Präcipitat bei *b*. Aus der Kapillarspitze *c* kann bei schiefer Stellung des Kölbchens eine reichlich mit Sulfidferment beladene Kultur abtropfen, während bei *db* hauptsächlich nur aërobe Bakterien vorkommen; *a* Glashelm.

Fig. 2. Andere Form des Trennungskölbchens. In ein gewöhnliches, durch Glashelm verschlossenes Gärungskölbchen ist durch ein Glaströpfchen *g* ein Röhrchen eingeschmolzen, welches bei *e* in ein kleines Trichterchen, bei *f* offen endet. Wird die Nährflüssigkeit zwischen *e* und *d*, also außerhalb der inneren Röhre infiziert mit einem Gemische von Aëroben und Anaëroben, so begeben sich die letzteren in größerer Anzahl in das Innenrohr wie die ersteren und können bei *e* für weitere Infektion gesammelt werden. Bei *e* kann man anfangs mit einem Tropfen Paraffin verschließen.

teilung: Die Aërobien finden sich in der kugeligen Erweiterung und bleiben unterhalb einer scharfgezogenen Trennungslinie am Boden der Gasröhre. Untersucht man die im Gasrohre oberhalb dieser Trennungslinie vorkommende Kulturflüssigkeit, so findet man, daß die Aërobien darin zwar nicht ganz fehlen, jedoch nur in verschwindend geringer Menge vorkommen. Werden Aërobien allein im Gärungskölbchen kultiviert, so bleibt die Nährflüssigkeit im Gasrohre vollständig klar und durchsichtig, in der Kugel und unterhalb des Niveaus

im Gasrohre dagegen undurchsichtig und dick trübe. Mit fluorescierenden Bakterien, wie B. fluorescens non liquefaciens in Fleischbrühe kultiviert, ist dieser Versuch sehr elegant[1]).

Die Fakultativanaërobien sind über die ganze Flüssigkeit entweder gleichmäßig verbreitet oder in der Kugel infolge der Schwere beträchtlich angehäuft, immer jedoch im Gasrohre sehr zahlreich.

Die Obligatanaërobien sind über die ganze Flüssigkeit ziemlich gleichmäßig verteilt, so daß deren relative Zahl besonders in Bezug auf die Aërobien im Gasrohre viel größer ist, wie wenn in der Flüssigkeit alles gleichmäßig gemischt wird.

Die Erfahrung hat nun gezeigt, daß, wenn im Trennungskölbchen eine kräftige Reduktion stattgefunden hat und man läßt einen Tropfen aus der Kapillarspitze fließen, darin sehr viel mehr Sulfidspirillen vorkommen, wie in den auf andere Weise gewonnenen Proben.

Die zweite Form des Trennungskölbchens ist in Fig. 2 abgebildet. Hier findet sich das Ableitungsrohr für die Anaërobien im Innern. Dieses Rohr endet einerseits offen in die Spitze des Gasrohres, andererseits in einen kleinen Trichter in der Anschwellung des Kölbchens, so daß daraus leicht mit einem Platinfaden oder einer Kapillarröhre etwas Infektionsmaterial entfernt werden kann für weitere Versuche.

Das Kölbchen wird beim Anfange des Versuches mit durch Kochen sterilisierter und luftfreier Nährlösung dermaßen angefüllt, daß der kleine Trichter frei über dem Niveau der Flüssigkeit herragt. Es wird nun auf die gewöhnliche Weise infiziert und genau zugesehen, daß nichts in den Trichter hineinkommt. Das Infizieren muß sofort nach dem Abkühlen geschehen, und zwar im Außenraume mit möglichst viel Impfmaterial, wodurch dem Luftzutritt ganz vorgebeugt wird. Beim Abkühlen muß nur die Kugel, nicht das Gasrohr mit Wasser übergossen werden, um die Ueberführung lufthaltiger Flüssigkeit ins obere Ende des Gasrohres durch das Sinken von kalter in warmer Flüssigkeit zu verhindern. Bei einiger Geschicklichkeit kann man die Kugel schon infizieren bei 25°, wenn im Gasrohre die Temperatur noch 66° C beträgt. Diese Bemerkungen gelten ebenfalls für das in Fig. 1 abgebildete Kölbchen mit äußerem Ableitungsrohre. Fürchtet man, daß Feuchtigkeit sich am Stiele des Trichters absetzen und durch Kapillarität zur Infektion des Innenrohres veranlassen wird, so kann vorher durch ein Tröpfchen Paraffin im Trichterchen das Innenrohr ganz abgeschlossen werden. Später kann die Paraffinschicht leicht mit dem Platinfaden oder mit einer Kapillarröhre durchstochen werden zur Erhaltung von Impfmaterial der im Rohre befindlichen Fakultativ- und Obligatanaërobien. Für die vorliegende Untersuchung wird im Außenraume mit Grabenschlamm oder mit dem Sedimente einer vorhergehenden Reduktion infiziert; im Innenraume wird dann die Anhäufung des Sulfidfermentes (mit anderen Spirillen) bemerkbar.

Einen anderen Fortschritt machte das Kulturverfahren des Sulfid-

---

1) Siehe ferner Th. Smith, Das Gärungskölbchen in der Bakteriologie (Centralblatt für Bakteriologie. Bd. VII. 1890. p. 503, Bd. XIV. 1893. p. 864).

fermentes durch die Beobachtung, daß die Gegenwart der gewöhnlichen kleinen Wasserspirillen das Wachstum des Fermentes sehr fördert. Da ich nun Formen von Spirillum tenue Cohn seit längerer Zeit fortzüchtete, konnte ich auch diese Eigenschaft leicht in Anwendung bringen.

Spirillum tenue wächst auf den gewöhnlichen Nährböden zwar langsam, doch ohne besondere Schwierigkeit. Der Boden soll sehr schwach alkalisch reagieren und neutrale Salze organischer Säuren enthalten. Die Gegenwart von Pepton ist günstig. Von meinen drei Varietäten verflüssigen zwei die Nährgelatine durchaus nicht, die dritte etwas. In Fleischbouillon entstehen wunderschöne Kulturen, worin die Spirillen 20 und mehr Windungen annehmen. Charakteristisch für die Spirillen ist die Bildung von sehr viel Calciumkarbonat, sowohl in festem wie in flüssigem Substrate.

Die Flüssigkeiten, womit das Trennungskölbchen am besten angefüllt wird, sind dieselben, wie bei den Rohkulturen angegeben. Doch habe ich auch andere Gemische verwendet. Bei gleichzeitiger Aussaat von Spirillum tenue fand ich, daß die Konzentration an organischen Stoffen in der Sulfatlösung ohne Nachteil eine viel höhere sein kann, wie ohne diesen Organismus. Nur müssen Zuckerarten, wie schon früher bemerkt, fern gehalten werden, damit keine Gärungen und keine Säuren entstehen.

In allen Fällen werden die Flüssigkeiten, ehe damit das Kölbchen angefüllt wird, durch Kochen sauerstofffrei gemacht und auch noch im Kölbchen selbst erhitzt.

Das Kölbchen habe ich z. B. angefüllt mit folgender Lösung:

Grabenwasser mit $^1/_4$ Proz. Kaliummalat,
$^1/_4$ Proz. Pepton siccum,
$^1/_{10}$ Proz. Mohrsalz,

durch Natriumkarbonat alkalisch gemacht und präzipiert.

Als ich infizierte mit frischem Grabenwasser und Spirillum tenue, war bei 28° C schon nach 24 Stunden Eisensulfid sichtbar.

Ein anderes Mal wurde das Kölbchen angefüllt mit Grabenwasser mit $^1/_4$ Proz. Asparagin, $^1/_5$ Proz. Magnesiumsulfat, $^1/_5$ Proz. Kaliumphosphat und $^1/_{10}$ Proz. Ferrolaktat und 1 Proz. Natriumkarbonat bei sehr schwacher Trübung. Es wurde infiziert wie vorhergehend. Obschon Spirillum tenue in diesem Gemische schlecht wächst, war doch bald eine reiche Bakterienentwickelung eingetreten und nach 48 Stunden bei 30° starke Schwefelwasserstoff- und Schwefelammonbildung. Selbst reine $^1/_2$-proz. Peptonlösung mit $^1/_{10}$ Proz. Mohrsalz und etwas Natriumkarbonat haben zum Zwecke geführt. Hierbei stellte sich heraus, daß im allgemeinen eine desto kräftigere Reduktion erreicht wurde, je höher der Gehalt an organischen Stoffen war, welche überhaupt noch Reduktion gestatten. Da die organischen Stoffe jedoch zuvor durch die anderweitigen Bakterien zersetzt werden müssen, dauert es in solchen Fällen länger, bevor die Reduktion bemerkbar wird. Die höchsten Konzentrationen, welche ich untersuchte, waren eine Lösung von 1 Proz. Natriummalat, $^1/_2$ Proz. Asparagin, $^1/_4$ Proz. Kaliumphosphat, $^1/_4$ Proz. ClNa, $^1/_4$ Proz. Natriumkarbonat und $^1/_{10}$ Proz. Mohrsalz in Grabenwasser. Auch darin war nach drei Tagen

bei 28° C Schwefeleisen entstanden. Ich wünsche hier noch zu betonen, daß die Mischinfektion mit Spirillum tenue zwar günstig wirkt, jedoch für das Gelingen aller dieser Versuche nicht essentiell ist.

Natürlich liegt in der Biegung *b* des Kölbchens bei Verwendung der genannten Nährflüssigkeiten ein flockiges Präcipitat, worin sich zunächst das Sulfidferment ansiedelt und schwarze Flecke erzeugt. Später steigt die schwarze Färbung, wohl in Folge der Entstehung löslichen Eisensulfürs, höher ins Gasrohr hinauf und schwarze Flöckchen setzen sich an die vertikale Glaswand. Da diese Flöckchen sich zu langen, vertikalen Strichen heranbilden, offenbar durch das Nachunten-fallen des Sulfidfermentes, welches dann tiefer an das Glas festklebt, muß angenommen werden, daß diese Bakterien unter günstigen Lebensbedingungen sich nicht bewegen. Ueberhaupt weist, wie schon bemerkt, alles darauf hin, daß bewegliche Bakterien gewöhnlich in Ruhe sind und nur notgedrungen sich in Bewegung setzen.

Aus der im Reduktionskölbchen mit Sulfidfermenten bereiteten Nährflüssigkeit ist die Isolierung sowohl vermittelst Gelatine, wie mit Agar gelungen, und zwar besonders beim Agarverfahren ziemlich leicht.

Die Agarnährmasse war wie folgt bereitet:

Eine sehr klare, zweimal filtrierte wässerige Agarlösung wurde längere Zeit mit destilliertem Wasser ausgewaschen, zur vollständigen Entfernung aller löslichen Körper. Es wurde dazu die im Kochkölbchen erstarrte Masse einfach mit destilliertem Wasser übergossen, welches oft erneuert wurde. Es wurde dann geschmolzen und aufgekocht, eine äußerst geringe Menge einer Nährlösung zugesetzt, welche Natriummalat, Asparagin und Kaliumphosphat enthielt und aufs neue gekocht zur vollständigen Entfernung der Luft. Während des Abkühlens wurde ein Tropfen einer klaren neutralen Lösung von Mohrsalz zugegeben und eine so geringe Spur Natriumkarbonat, daß noch keine Trübung auftrat. Nachdem ein kleines Tröpfchen aus der Kapillarspitze des Reduktionskölbchens tüchtig untergemischt war, wurde unverweilt in Reagentienröhrchen oder in sehr flache Glasschalen und Glasdosen von verschiedener Konstruktion übergegossen und sofort in Wasser abgekühlt. Die Glasschalen bestanden aus millimetertiefen, decimeterweiten Schalen, durch eine polierte Glasplatte geschlossen, die Dosen (Fig. 3) aus den bekannten breiten Glasringen, worauf geschliffene Glasplatten gleicher Mittellinie genau passen, so daß ein flacher Raum entsteht von der Tiefe der Glasringdicke, von der Weite des Glasringinnenraumes. Daß bei einer solchen Versuchsanstellung weder in Reagentienröhren noch in Glasschalen eine vollständig sauerstofffreie Nährmasse zu erhalten ist, ist bekannt, und das Sulfidferment auf diese Weise zu kultivieren, wenn es allein gegenwärtig wäre, würde auch nicht gelingen. Es finden sich aber im Aussaatmateriale massenhaft andere Bakterien und diese machen nun zunächst das Medium ganz sauerstofffrei und bereiten dasselbe auch, eben wie für die Nährlösungen angegeben, auf andere Weise vor, so daß das Sulfidferment nach zwei oder mehr Tagen darin geeignete Bedingungen für Wachstum und Sulfatreduktion findet und Kolonieenbildung davon anfängt. Sind als Nebenflora Spirillen

vorherrschend, so wachsen die Kolonieen ziemlich lange, jedenfalls geht die Reduktion dann ruhig fort, bis alles Sulfat zerlegt, alles Eisen als Schwefeleisen abgesetzt ist. Spielen andere Bakterienarten als Spirillen neben dem Sulfidfermente die Hauptrolle, so sind die Erscheinungen in den festen Substraten sehr abwechselnd, oft überraschend und durchaus nicht immer erklärbar. Nicht selten beginnt die Reduktion in solchen Fällen stürmisch, um schon nach zwei oder drei Tagen zur Ruhe zu kommen und nicht wieder zu beginnen. Die Kolonieen sind dann so klein, daß man besser thut, von neuem anzufangen. Jedenfalls ist es ratsam, nur gut ausgewachsene Kolonieen für weitere Kulturen zu verwenden, da selbst darin die Zahl der Bakterien klein ist und oft kaum tausend beträgt. Die Kolonieen scheinen bei dem hier beschriebenen Verfahren zwar groß, doch rührt dieses von dem Eisensulfürmantel her; wird dieser in Säure gelöst, so verschwinden die Kolonieen für das Auge oft ganz. Das Wachstum der Kolonieen kann dadurch gefördert werden, daß eine Agarplatte, worin dieselben vorkommen, entweder ganz aus den Glasplatten gelöst oder noch zum Teil oder ganz dazwischen geschlossen in eine für Sulfatreduktion geeignete Nährlösung untergetaucht wird. Wird die Flüssigkeit dann und wann erneuert, so kann das Wachstum der Kolonieen lange fortdauern. Dünne Agarplatten können füglich ineinandergerollt, in weithalsige Stöpselflaschen gebracht werden, während noch zwischen den Glasplatten befindliche Agarschichten, wo die Nährlösung nur peripherisch zutreten kann, besser in Glasdosen gelegt werden, welche ganz mit der Kulturflüssigkeit angefüllt und durch gut aufgeschliffenen Deckel vollständig von der Luft abgeschlossen sind. Doch habe ich auch bei Anwendung dieses Kunstgriffes immerhin noch mit sehr kleinen Bakterienmassen zu schaffen gehabt, welche einige Vorsicht erforderten, um davon mit dem Platinfaden eine Prise zu nehmen, so daß Aussaaten, welche man von Kolonieen hergenommen zu haben meint, vielfach steril bleiben. Ueberhaupt ist die Schwierigkeit der Isolierung in die letzten Schritte der Manipulation gelegen, und einmal isolierte Kulturen sind für weitere Experimente erst recht unangenehm zu handhaben, da es schwierig ist, ohne Mithilfe lebender Organismen einen absolut sauerstofffreien Kulturraum darzustellen. Unsere geringen Kenntnisse in Bezug auf die Bakterien der Peptonfäulnis, worunter die interessantesten Arten eben wie das Sulfidferment Anaërobien sind, beweisen, beiläufig bemerkt, daß ich nicht der einzige bin, diese Schwierigkeit zu empfinden [1]). Uebrigens habe ich mich in diesem Falle nur so lange mit Versuchen mit Reinkulturen beschäftigt, als nötig war für die sichere morphologische Charakteristik, und zur Feststellung der Thatsache, daß die Reduktion der Sulfate durch das Ferment ohne Mithilfe anderer Bakterien möglich ist.

1) Ich wünsche hier noch zu betonen, daß es zwei Klassen von echten Anaërobien giebt. Die eine Klasse, repräsentiert durch das Butylferment, vermag die letzten Spuren Sauerstoff aus den Nähmedien zu absorbieren, wobei die morphologisch so charakteristische „Sauerstoffform" auftritt. (Die Butylalkoholgärung. p. 27. Amsterdam 1893.) Die zweite Klasse, wozu das Sulfidferment gehört, besitzt eine solche Sauerstoffform nicht und fordert absolute Abwesenheit des Sauerstoffes, um zur Entwickelung zu kommen.

Doch betrachten wir die Eigenschaften der Kolonieen. Ob diese in Gelatine oder Agar eingeschlossen liegen, ist gleichgiltig. Formverschiedenheit war dazwischen nicht zu bemerken, Verflüssigung der Gelatine findet nicht statt.

Bei Abwesenheit von Eisensalzen sind die äußerst kleinen Kolonieen durch nichts charakterisiert, Pigmentbildung fehlt vollständig [1]).

Bei Gegenwart von Eisensalzen sind die Kolonieen sehr leicht kennbar (Fig. 3), doch muß bemerkt werden, daß die dem Schwefel-

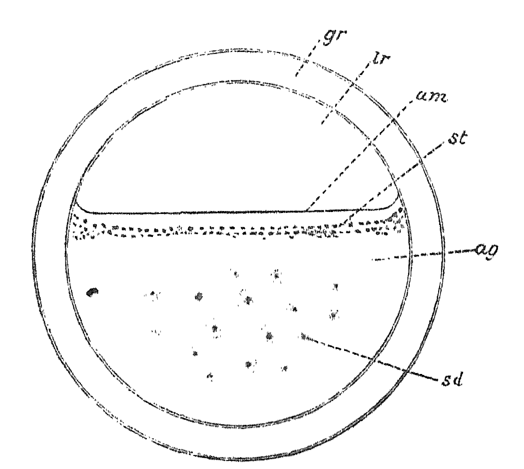


Fig. 3. Kultur von einem Gemische von Spirillum tenue (*st*) und S. desulfuricans (*sd*) in Agar (*ag*) zwischen zwei durch Glasring (*gr*) getrennte Glasplatten. Der Hohlraum ist nur teilweise angefüllt, *lr* ist der Luftraum, *am* der Agarmeniscus.

Die Schicht der Kolonieen von Spirillum tenue liegt in einiger Entfernung vom Meniscus bei *st*, hat sich also bei verminderter Sauerstoffspannung gebildet. Kolonieen von Spirillum desulfuricans sind durch Schwefeleisenablage schwarz und auch ihre Umgebung ist dadurch gefärbt.

eisen entlehnten Eigenschaften natürlich nur dann für das Sulfidferment eigentümlich sind, wenn keine anderen Schwefelquellen als Sulfate gegenwärtig sind, und daß sie anderenfalls auch bei mehreren anderen Bakterienarten, welche auf andere Weise Schwefelwasserstoff bilden, zurückgefunden werden. Doch besitzen diese letzteren Bakterien keine Spirillengestalt, so daß die Diagnose durch Bezugnahme auf die mikroskopischen Eigenschaften immer möglich sein dürfte. Allerdings ist die Spirillengestalt des Sulfidfermentes nicht jederzeit scharf ausgeprägt.

Die reduzierenden Kolonieen können unter zwei Formen auftreten, entweder mit einer diffusen, sich allmählich in die Umgebung verlierenden Schwefeleisensphäre, oder als intensiv schwarze Punkte ohne eine solche Sphäre. Worauf dieser Unterschied beruht, ist mir nicht deutlich geworden; nur in den mit einer Sphäre versehenen Kolonieen habe ich weitere Reduktionen anstellen können, nicht mit der anderen Form. Das Vorkommen beweglicher Individuen bei der zweiten Form beweist, daß hier nicht der Unterschied zwischen Leben und Tod vorliegt. Da es mir nicht möglich war, irgend einen konstanten morphologischen Unterschied zwischen den Bakterien beider Kolonieformen zu unterscheiden, habe ich keine Ursache, dabei an verschiedene Bakterienarten zu glauben, doch muß ich bemerken, daß aus

1) Zelinsky's Bacterium hydrosulfureum ponticum verflüssigt Gelatine und erzeugt ein braunes Pigment.

den Kolonieen mit der Sphäre nur ähnliche Formen in den davon abgeleiteten Kulturen entwickelt sind.

Die Sphäre rings um die Kolonieen besteht, wie gesagt, aus Schwefeleisen (Fig. 4). Dieses kommt vor sowohl als gleichmäßige, sich nach außen allmählich verlierende Färbung des Agars oder der Gelatine und als aus kleinen Kugeln, seltener unregelmäßigen Klumpen bestehender Niederschlag. Die kleinen Kugeln sind alle nahezu gleich groß und gleichen täuschend Mikrokokken. Da sie sich vollständig in Salzsäure lösen, liegt keine Ursache vor, darin ein organisches Skelett (wie in den zwar viel größeren Calciumkarbonatsphäriten, welche entstehen, wenn Natriumkarbonat und Chlorcalcium bei Gegenwart von Eiweiß oder Gelatine aufeinander einwirken) anzunehmen, offenbar bestehen dieselben aus reinem Schwefeleisen. Die Kügelchen liegen ebenfalls innerhalb der Kolonieen, zwischen den Bakterien zerstreut, doch ist ihre Zahl hier viel beschränkter, wie überhaupt der von den Bakterien angefüllte Raum auffallend wenig gefärbt erscheint.

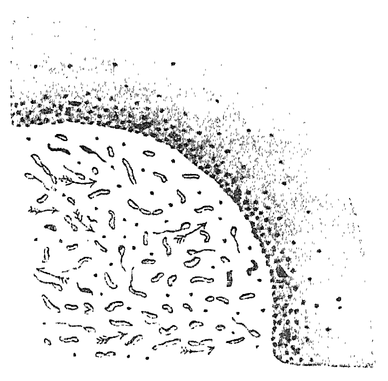


Fig. 4. (1000.) Eine Kolonie von Spirillum desulfuricans wie Fig. 3 stark vergrößert. Im Agar und in der Kolonie zahlreiche Schwefeleisenniederschläge. Die Spirillen teilweise tot und schwarz. Die Bewegung durch Pfeile angegeben.

Bei dem hier beschriebenen Versuche haben wir vorausgesetzt, daß im Trennungskölbchen neben dem Reduktionsfermente gewöhnliche Wasserspirillen im Uebermaße vorkommen. Dieses war dadurch erreicht, daß neben Infektionsmaterial, worin das Sulfidferment, auch eine Kultur von Spirillum tenue zugesetzt wurde. Bei der Verwendung von Pepton oder organisch saurem Salze und Mohrsalz als Schwefelquelle und Indikator hat Spirillum tenue ein so starkes Reproduktionsvermögen, daß die übrigen Bakterienarten mehr oder weniger vollständig zurückgedrängt werden. Die Folge davon ist, daß in einer Aussaat zwischen Glasplatten, wie in Fig. 3 abgebildet, wo die Luft einerseits zutreten kann, auch nur Spirillum tenue und die Sulfidfermente Kolonieen in gewisser Menge erzeugen, die fremden Bakterienkolonieen, besonders die aërobien, beinahe ganz eliminiert sind.

Es sei mir gestattet, hier auf eine Eigentümlichkeit im Wachstume der Kolonieen von Spirillum tenue aufmerksam zu machen, welche in Bezug auf das Verhältnis der Mikroorganismen zum freien Sauerstoff von tiefer Bedeutung ist. Diese Eigentümlichkeit besteht darin, daß bei gleichmäßiger Verteilung der Spirillen im Substrate die Kolonieen in einer bestimmten Entfernung vom Meniscus stark angehäuft und nur dort von bedeutender Größe vorkommen (*st* Fig. 3), während höher und tiefer von den Spirillenkolonieen nichts mehr zu bemerken

ist. Offenbar entstehen die Kolonieen an einer Stelle im Nährboden, wo die Spannung des gelösten Sauerstoffes eine ganz bestimmte und sehr geringe ist. Bei einer anderen Gelegenheit habe ich die beweglichen Bakterien nach ihrer Beweglichkeit in Bezug auf den gelösten freien Sauerstoff zu drei Typen gebracht: dem Aërobientypus, dem Spirillentypus und dem Anaërobientypus, je nachdem eine Ansammlung der betreffenden Arten stattfindet an den Stellen der höchsten, einer mittleren und der geringsten Spannung. Wir sehen nun, daß diese drei Bewegungstypen ihr Analogon in den Wachstumsverhältnissen finden, und wir sind offenbar berechtigt, aus der einen Erscheinungsreihe auf die Modalität in der anderen zu schließen. Die tiefere Erklärung des hier aufgestellten Parallelismus wird wohl die sein, daß sowohl Wachstum wie Bewegung eine optimale Intensität erreichen bei identischen Sauerstoffspannungen. Es erhebt sich die Frage, ob bei dem Spirillum tenue, bei jener mittleren Tension, welche sich als optimale ergiebt, auch die Kohlensäureabgabe eine mittlere ist oder eben dabei zu einem Maximum ansteigt. Die letztere dieser beiden Möglichkeiten ist wohl die wahrscheinlichere, denn bei den Obligatanaërobien verhindert der Sauerstoffzutritt die Kohlensäureabgabe gänzlich.

Doch kehren wir zurück zur Betrachtung des Sulfidfermentes.

Die in Agar oder Gelatine eingeschlossenen Kolonieen sind aus kurzen, nur sehr wenig gewundenen Spirillen zusammengesetzt, welche gewöhnlich ca. 4 μ lang und ca. 1 μ dick sind, nur wenige erreichen eine größere Länge oder bleiben ganz kurz. Die Zahl der Windungen ist $\frac{1}{2}$—1 und nur selten kommt mehr wie eine ganze Windung zur Beobachtung. Die meisten Individuen sind mäßig schnell beweglich, jedoch nur solange der Sauerstoffzutritt zu den Präparaten verhindert wird. Wenn dieses Gas zufließen kann, ziehen die mehr beweglichen Exemplare sich nach der sauerstoffarmen Mitte des Präparates zurück während die weniger beweglichen ganz gelähmt werden und bewegungslos liegen bleiben. Also dasselbe Verhalten, welches ich früher für den Einfluß des Sauerstoffes auf die Beweglichkeit des anaërobischen Butylfermentes beschrieben habe [1]). In den Kolonieen, welche bei Gegenwart von Eisensalzen entstanden sind, liegen überall zwischen den Spirillen die nämlichen schwarzen mikrokokkenartigen Eisensulfürniederschläge, welche wir schon früher in der Umgebung der Kolonieen kennen lernten (Fig. 4). Abgestorbene Spirillen werden an sich Attraktionscentra für Schwefeleisenablagerung, sie werden dabei intensiv schwarz und schwellen gewaltig an, oft kommt dabei die Spirillengestalt sehr deutlich zur Ausprägung [2]).

An vielen Sulfidspirillen konnte ich nicht ohne Mühe einen terminalen Schwärmfaden oder Schwärmfädenbüschel beobachten. Die

1) Centralblatt für Bakteriologie. Bd. XIV. 1893. p. 841.

2) Bei meinen Versuchen habe ich einmal eine stattliche Spirillenart beobachtet, welche im lebenden und beweglichen Zustande Schwefeleisenkörner im Inneren abgelagert hatte. Auch R. Koch scheint diese Art gefunden zu haben, und er bezeichnet dieselbe (Koch sagt „nach Perty“, doch suchte ich in „Kleinste Lebensformen“ vergebens nach diesem Namen) als Spirillum leucomelaenum. (Mitteilungen des Gesundheitsamtes. Bd. I. 1881. p. 48.)

in den Flüssigkeiten vorkommende Form des Fermentes ist meistens noch kleiner wie diejenige in den Kolonieen im festen Substrate, doch bleibt man auch dabei nicht unsicher über die Spirillennatur. Ich glaube deshalb, daß unser Ferment mit dem Namen Spirillum desulfuricans belegt werden kann.

Wenn ich hier das Sulfidferment unter dem „Genusnamen" Spirillum einzuführen versuche, so muß ich betonen, daß ich eine solche Einreihung nur für eine vorläufige halten kann, denn es ist sicher, daß die bisher als Spirillum angeführten Organismen untereinander tief verschieden sind. Dieses gilt z. B. in Bezug auf das Verhalten der Spirillen zum freien Sauerstoff. Dabei kommen drei scharf getrennte Typen zur Beobachtung, welche sowohl durch das Kolonieenwachstum im festen Nährsubstrate, wie durch die „Atmungsfigur" bei der Bewegung kenntlich werden. Wir finden nämlich den Aërobientypus bei dem Spirillum tyrogenum (auch bei Cholera), den Spirillentypus bei Spirillum tenue, den Anaërobientypus bei Spirillum desulfuricans.

Es ist wahrscheinlich, daß diese physiologischen Verschiedenheiten die Folge sind von nur sehr entfernter systematischer Verwandtschaft, welche dereinst veranlassen dürfte, unsere gegenwärtige künstliche Gattung Spirillum wenigstens in drei natürliche Gattungen zu spalten. Doch wird diese Zeit erst kommen, wenn wir über das gesamte Bakteriensystem einen besseren Ueberblick besitzen, wie heute.

Hat man Spirillum desulfuricans einmal in Reinkultur gebracht, so muß man nicht glauben, daß dann die Schwierigkeiten für die weitere Untersuchung verschwunden sind. Ganz im Gegenteil, dieselben werden dann noch viel größer wie beim Rohmaterial. Dieses resultiert aus der Notwendigkeit der Durchführung von Kautelen, wodurch der Sauerstoff vollständig entfernt wird, und Jeder, welcher sich mit solchen Versuchen beschäftigt hat, welche sehr oft wiederholt werden müssen, weiß, wie aufreibend es ist, in dieser Beziehung radikal zu handeln, wenn man dabei nicht aërobische Mikrobien zu Hilfe nehmen kann. Vielleicht wäre die Verwendung von Ferrosulfat, anstatt Mohrsalz, in dieser Beziehung empfehlenswert. Doch auch das wäre nur Notbehelf. Obschon ich mich seit mehr als 2 Jahren mit dem Sulfidfermente beschäftige, habe ich infolge jenes Umstandes doch Vieles noch nicht sicher festgestellt, was zur Biologie desselben gehört. Selbst die dafür notwendige Zeit hat mir gefehlt, denn man bedenke, daß das schließliche Resultat eines Reduktionsversuches oft erst nach 3—4 Wochen bekannt ist, und daß bei der Versuchsanstellung mit Reinkulturen die meisten Versuche fehlschlagen. Noch nicht entschieden sind z. B. die folgenden Fragen: Vermag das Sulfidferment andere Körper wie Sulfate zu reduzieren, z. B. Indigkarmin, Lackmus, Ferrisalze, Nitrate? Sind die Sulfidfermente, welche an thonigen Meeresküsten zu der sehr umfangreichen dort herrschenden Schwefelwasserstoff- und Schwefeleisenbildung veranlassen, identisch mit Spirillum desulfuricans? und wie wirkt der Salzgehalt auf unser Ferment? Gehört das Sulfidferment in unseren Graben und Teichen sowie im Boden immer zu ein und derselben oder zu mehreren Arten? Auch die besonders wichtige Frage

nach der Tiefe, bis zu welcher das Ferment im Boden vorkommt, und die Bezeichnung der Stelle, wo die Sulfatreduktion in dafür geeigneten Böden vollendet ist, sind noch ungelöste Probleme.

Delft, 29. Oktober 1894.

Zusammenfassende Uebersichten.

Die Bakterien des Stalldüngers und ihre Wirkung.

Zusammenfassende Uebersicht

von

Dr. E. Herfeldt

in

Bonn.

(Schluß.)

d) Die ammoniakalische oder Harnstoffgärung.

Die ammoniakalische Gärung wird deshalb auch Harnstoffgärung genannt, weil der größte Teil des bei derselben gebildeten Ammoniaks aus dem Harnstoffe, der durch den Harn in den Dünger gelangt, herrührt. Der Harnstoff wird hierbei zu kohlensaurem und karbaminsaurem Ammoniak zersetzt, was direkt durch die Lebensthätigkeit von Bakterien verursacht wird.

Pasteur (8) und van Tieghem (9) gelang es zuerst — wahrscheinlich identische — Kokkenarten zu isolieren, welche die Fähigkeit besaßen, in frischem, resp. sterilisiertem Harne Harnstoffgärung hervorzurufen. Sie benannten diese Kokken — von 0,8—1,0 μ Durchmesser, oft in Form von Diplokokken oder Tetraden, auch Ketten zusammengelagert — Micrococcus ureae.

Später (1879) stellte Miquel (10) fest, daß auch gewisse Stäbchenbakterien und sogar Schimmelpilze sehr energische ammoniakalische Gärungen einzuleiten und durchzuführen imstande sind. Miquel gab hierbei die Beschreibung seines Bacillus Duclauxii sive Bac. ureae β. 6 Jahre später bezeichnete Leube (11) einen derartigen weiteren Bacillus mit Bacterium ureae, außerdem beschrieb derselbe noch einen Harnstoff energisch zersetzenden Coccus und zwei weitere Bacillen von bedeutend schwächerem Hydradisationsvermögen.

Das eben erwähnte Bacterium ureae stellt plumpe Stäbchen mit abgerundeten Enden dar, zumeist 2 μ lang und 1 μ dick.

Der eine der beiden letzterwähnten Bacillen bildet 1,2—1,5 μ lange und 0,7—0,8 μ dicke ovale Stäbchen, der zweite 1,2—1,4 μ lange und 0,6 μ dicke Stäbchen mit scharf abgeschnittenen Enden.

Flügge (12) endlich vermochte aus zersetztem Harne einen energische Harnstoffgärung erzeugenden Coccus zu isolieren, welcher sich von dem Micrococcus ureae dadurch unterscheidet, daß er

Nährgelatine verflüssigt, welche Eigenschaft letztgenanntem nicht zukommt. Flügge nennt den neuen Coccus Micrococcus ureae liquefaciens.

e) Die Schwefelwasserstoffgärung.

Bei der fauligen Gärung tritt sehr häufig Schwefelwasserstoffgärung auf, welche durch Bakterien verursacht wird.

Miller (13) isolierte aus dem Darme einen Bacillus, der bei der Zerlegung der Eiweißkörper Schwefelwasserstoff und Ammoniak liefert.

Holschewnikoff (14) charakterisierte zwei Schwefelwasserstoff bildende Bakterien, den einen gezüchtet aus Wasser, welchen er Proteus sulfureus nannte, den anderen isoliert aus dem Schlamm der Wiesbadener Kläranlage. Letzteren benannte er Bacterium sulfureum.

Balistreri (15) fand, daß von 35 untersuchten Bakterien 18 Schwefelwasserstoff bilden. Die Schwefelwasserstoffentwickelung ist nach dem genannten Autor bei den Bakterien nicht an die Gegenwart von Sauerstoff, wohl aber an gewisse, noch nicht erforschte Nebenumstände gebunden.

f) Die Cellulosevergärung.

Déhérain und Gayon zeigten zuerst, daß die schon früher anderwärts beobachtete Lösung und Vergärung von Cellulose in Form abgestorbener Pflanzenteile auch im Dünger vor sich geht.

Wie im Dünger, so findet dieselbe auch im Boden statt; Bedingungen dafür sind ein gewisser Grad von Wärme, Feuchtigkeit, Abschluß von Luft und genügende Menge cellulosehaltigen Gärmaterials.

Nachdem schon 1850 von Mitscherlich (16) festgestellt war, daß Cellulose durch Vergärung aufgelöst werden kann, und nachdem dieser Forscher die Vermutung ausgesprochen hatte, daß die fermentative Lösung der Cellulose durch Vibrionen erfolge, gelangte später van Tieghem (17) durch Versuche zu dem Resultate, daß die Lösung der Cellulose durch Mikroorganismen bewirkt wird, deren Eigenschaften mit den von ihm als Amylobacter bezeichneten Bakterien übereinstimmen.

Bei dieser unter Gasentwickelung erfolgenden Gärung wird nach van Tieghem eine Säure gebildet, welche den weiteren Fortschritten der Gärung nach und nach hinderlich ist.

Tappeiner (18) fand später, daß die Cellulosegärung auch durch Bakterien des Pansens, der Haube und des Dickdarmes des Rindes erfolgen kann. Tappeiner glaubte hierbei zweierlei Gärung konstatieren zu können. Bei der ersten, welche durch Darmbakterien des Rindes in reiner Cellulose, die in Form von gereinigter Baumwolle oder Papierbrei in neutraler 1-proz. Fleischextraktlösung suspendiert ist, hervorgerufen wird, bilden sich Kohlensäure und Sumpfgas, außerdem sollen in geringer Menge Schwefelwasserstoff, Aldehyd, Buttersäure und Essigsäure wahrnehmbar gewesen sein.

Bei der zweiten Vergärungsart, welche in alkalischer Fleisch-

extraktlösung durch dieselben Bakterien durchgeführt wird, bilden sich vorwiegend Kohlensäure und Wasserstoff neben den gleichen Nebenprodukten wie bei der ersten.

Diese Versuche haben, wenngleich bei ihnen nicht mit Reinkulturen gearbeitet wurde, hauptsächlich deshalb Wert, weil durch dieselben erbracht ist, daß die Darmbakterien des Rindes Cellulosegärung hervorrufen können, welche Bakterien also auch mit den Exkrementen in den Dünger gebracht, dort diese Gärung durchzuführen vermögen.

Nach Hoppe-Seyler (19), welcher die Bakterien, die Sumpfgas und Kohlensäure aus Cellulose entwickeln, nach Form, Größe und Verhalten einigermaßen zu charakterisieren vermochte, sollen dieselben keine erkennbare Verschiedenheit von den von van Tieghem als Amylobacter bezeichneten Bakterien zeigen. Bei den Versuchen Hoppe-Seyler's waren neben den genannten Gärprodukten nur Spuren löslicher Stoffe zu konstatieren, so daß der Gärungsvorgang nur in der Weise erklärbar ist, daß zunächst ein zuckerartiges Kohlehydrat durch Wasseraufnahme entsteht, welches dann zu gleichen Raumteilen Kohlensäure und Sumpfgas zerfällt.

Hoppe-Seyler vermochte die Cellulosegärung durch jeden Schlamm, Acker-, Wiesen-, Walderde in Gang zu setzen. Bedingungen waren nur: Abschluß von Luft, genügender Feuchtigkeitsgrad und verhältnismäßig hohe Temperatur.

Schlösing (20) vermochte im Stalldünger bei einer Temperatur von 42 und 52° C sehr rasch die Cellulosegärung hervorzurufen, sobald aus Gärgefäßen und Dünger alle Luft ausgepumpt war.

Van Senus (21) gelangt bei seinen Arbeiten über Cellulosegärung zu teilweise neuen Resultaten:

Derselbe beschreibt den Bacillus amylobacter, den er rein kultiviert hat.

Hiernach hat dieser Bacillus eine Länge von 2—10, meist 5—7 μ, und 0,8—1 μ Breite; längere bis zu 13 μ messende Formen kommen in stark gärenden Flüssigkeiten vor. Sporenbildung tritt nur bei Gegenwart von Luft ein, während andererseits die Keimung dadurch verhindert und die Bewegung aufgehoben wird. Bacillus amylobacter wächst in Gelatine etc. $1^1/_2$—3 cm unter der Oberfläche, in Wasserstoffatmosphäre auch an der Oberfläche.

Van Senus glaubt auf Grund seiner Versuche die landläufige Behauptung, B. amylobacter sei der Erreger der Cellulosegärung, entkräften zu können, indem derselbe Cellulose in Fleischextraktlösung verteilt, unter keinen Umständen angreife. Wohl aber sei er dies in Symbiose mit einer anderen, sehr kleinen, aus dem Darme des Kaninchens isolierten Form imstande, während jede der beiden Formen für sich gegen Cellulose wirkungslos sei.

Die Cellulosegärung hält Verf. für eine anaërobe, bei welcher zunächst Wasserstoff, Kohlensäure und Essigsäure und vielleicht auch Buttersäure produziert werde. Die Essigsäure wird dann durch den Wasserstoff successive zu Aldehyd, Alkohol, Aether und Methan reduziert, wobei in an andern Körpern armen Medien Essigsäure und Wasserstoff ganz verbraucht werden; hieraus erklärt sich, daß Hoppe-

Seyler die Cellulose zu gleichen Teilen Kohlensäure und Methan vergohren fand.

Auch ein Cellulose lösendes Ferment will van Senus isoliert haben. Derselbe beschreibt schließlich eine Reihe von teilweise neuen Bakterien, die er aus in Cellulosegärung befindlichen Massen, nämlich Schlamm, Panseninhalt und faulenden Blättern isolierte; die Formen heißen: Clostridium butyricum, Bacillus tenuis, fibrosus, actinobolus, liquefaciens magnus, perforator, multiformis, ruminicola, flavus, augescens, erraticus, iriodes, fluo bacillus (Bacillus fluorescens) flavus, albus. Im allgemeinen fand er an den Orten der Cellulosegärung fast immer Clostridium butyricum, daneben anaërobe und wenig aërobe Bakterien.

g) Die Vergärung anderweitiger Kohlehydrate.

Neben Cellulose gelangen in den Dünger noch verschiedene andere Kohlehydrate, und zwar hauptsächlich Stärke, verschiedene Zuckerarten, gummiartige Körper, welche durch Bakterien vergoren werden.

Es bilden sich aus Stärke u. s. w. zuckerartige Stoffe, deren Gärungsendprodukte Kohlensäure und Wasser sind. Inzwischen greift Milchsäure- oder Buttersäuregärung Platz, welch erstere in den durch den Bacillus acidi paralactici oder durch andere hierzu befähigte Kokken oder Bacillen, deren eine große Menge existiert, hervorgerufen wird. Bei dieser Gärung wird der Zucker in Milchsäure unter Abspaltung von Kohlensäure überführt.

Die Buttersauregärung wird gleichfalls durch eine größere Anzahl von Bakterien, teils bei Luftabschluß, teils bei Luftzutritt induziert. Als die verbreitetsten Erreger dieser Gärung sind zu erwähnen das Clostridium butyricum, der Bacillus butyricus von Pražmowski und derjenige von Hueppe, ferner die buttersäurebildenden Bakterien von Liborius und von Fitz. Bei der Buttersäuregärung, deren Temperaturoptimum bei 40° liegt, werden neben Buttersäure auch Kohlensäure und Wasserstoff in reichlicher Menge gebildet.

Litteratur.

1) Journal für praktische Chemie. Bd. XVII.
2) Ibidem. Bd. V—VII.
3) Zeitschrift für klin. Medizin. Bd. VIII.
4) Ibidem.
5) Monatshefte für Chemie. 1889. No. 10.
6) Comptes rendus. T. CIX. No. 25. p. 835—890.
7) Annales agronomiques. T. XVIII. 1892. p. 85.
8) Annales de chim. et de phys. Bd. LXIV. 1862.
9) Compt. rend. T. LVIII. 1864. p. 210.
10) Bulletin de la société chimique de Paris. XXXI. p. 391.
11) Virchow's Archiv. Bd. C. p. 540.
12) Flügge, Die Mikroorganismen. 1886. p. 169.
13) Miller, Deutsche medizinische Wochenschrift. 1889. No. 49.
14) Fortschritte der Medizin. Bd. VII. p. 201.
15) Die Verbreitung der Schwefelwasserstoffbildung unter den Bakterien. (Archiv f. Hygiene. Bd. XVI. 1892. pag. 10.)

16) Mitscherlich, Monatsberichte der K. Akademie der Wissenschaften zu Berlin. 1850. p. 104.
17) van Tieghem, Compt. rend. 1879. T. LXXXVIII. p. 205. T. LXXXIX. p. 5.
18) Zeitschrift für Biologie. Bd. XIX. p. 288. Bd. XX. p. 52.
19) Zeitschrift für physiologische Chemie. Bd. X. 1886.
20) Compt. rend. T. CIX. 1889. p. 835.
21) Senus, A. H. C. van, Bydrage tot de kennis der cellulose gisting. Leiden 1890. (Koch's Jahresbericht. 1890. p. 136.)

Ueber Buttersäuregärung.

Von
Dr. Eduard Baier,
Assistenten a. d. bakteriol. Abteilung der landwirtschaftlichen Versuchsstation in Kiel.

(Schluß.)

Mehrmals schon wurde in der hiesigen bakteriologischen Abteilung die Beobachtung gemacht, daß unvollständig sterilisierte Milch, die auch bald in starke Gärung kam, einen kräftigen Geruch nach Limburger oder Backsteinkäse entwickelte. Mit dieser Milch wurden nach und nach mehrere größere Milchflaschen, die vollständig sterile Milch enthielten, geimpft; es traten bald in den einzelnen Flaschen die verschiedenartigsten, sogar aromatische Gerüche auf, manche aber gaben einen faulig-stinkenden Geruch von sich. In Gasentwickelung waren alle Proben mehr oder weniger stark begriffen. — Durch aërobe Züchtungsverfahren auf den verschiedenartigsten Nährböden wurde eine Menge verschiedener Bakterien mit peptonisierenden, Milchsäure produzierenden etc. Eigenschaften gefunden, die sich aber alle durchweg in Beziehung auf die Geruchs- und Gasentwickelung als belanglos erwiesen haben. Größere Aufmerksamkeit schenkten wir 2 isolierten Hefearten, bezw. einer Hefe und einem hefeähnlichen Pilze, die reingezüchtet wurden. Von diesen entpuppte sich die eine als in hohem Grade milchzuckervergärend, die andere aber als eine Moniliaart. — Durch anaërobe Züchtungsverfahren (im Botkin'schen Apparate) gelang es dann ferner, zweierlei Buttersäurebakterien zu erhalten, die auf den verschiedenen Nährböden sich durch verschiedene Wachstumsformen auszeichnen und auch in morphologischer Hinsicht zur Differenzierung besondere Anhaltspunkte bieten. Granulosefärbungen fielen negativ aus. Beide Formen sind nicht an strenge Anaërobiose gebunden und gedeihen am besten bei einer Temperatur von über 30 ° C. Milch zersetzen sie schon nach 20 Stunden vollständig; an ihrem Verhalten darin konnten bis jetzt keine nennenswerten Merkmale beobachtet werden. Die Serumflüssigkeit war gelbgrün, das Kaseïn löste sich nahezu vollständig im Verlaufe mehrerer Tage auf, und am Boden der Flaschen setzte sich in geringer Menge eine weißlich-schleimige Masse ab. Während die Gasentwickelung anfänglich sehr kräftig war, nahm dieselbe schon nach einigen Tagen sehr merklich ab, um später kaum mehr wahrnehmbar zu sein. Die so zersetzte Milch verbreitete beim Oeffnen einen geradezu unangenehmen,

penetranten, fauligen, stinkenden Geruch. Von einem Käsearoma war keine Spur zu entdecken. Der Nachweis von Buttersäurebildung wurde geliefert.

Es wäre gewagt und unmöglich, nach diesen kurzen einleitenden Untersuchungen jetzt schon Schlüsse zu ziehen; wir wollen uns aber bemühen, ihre genaue Bestimmung, soweit überhaupt möglich, herbeizuführen, und auch das Zusammenwirken der gefundenen Bakterien, Hefen und Buttersäurebakterien bezüglich der Aromaerzeugung zu studieren.

Daß es aromaerzeugende Bakterien giebt, ist schon vor mehreren Jahren durch H. Weigmann festgestellt worden. Der Geruch, den sie aus zuckerhaltigen Nährböden zu entwickeln vermögen, ist ein fruchtätherartiger, das Geschmacksaroma meist kräftig und an frischen Klee etc. erinnernd. Diese seit einiger Zeit wieder aufgenommenen Untersuchungen über die Aromabakterien lehren uns jedoch, daß nach längerer Züchtung das Aroma immer mehr abnimmt, ja zuletzt ganz verschwindet. Namentlich trifft dies dann zu, wenn die Kulturen solcher Bakterien sich immer mehr vollkommenen Reinkulturen nähern. Ohne Zweifel läßt sich dieses Verhalten darauf zurückführen, daß die Aromaproduktion auf Symbiose mehrerer Bakterien beruht. Solche an Symbiose gewöhnte Bakterien lassen sich nur äußerst schwierig voneinander trennen, da sie gewöhnlich in ihren Wachstumseigenschaften und ihrem physiologischen Verhalten nur äußerst wenig voneinander abweichen. — Vielleicht sind die verschiedenen erhaltenen Käsearomas auch auf symbiotisches Verhalten der verschiedenen isolierten Bakterien und Hefen zurückzuführen, und bethätigen sich dabei auch die Buttersäurebakterien in reichlichem Maße? Wir setzen diese Versuche fort und hoffen später Näheres darüber berichten zu können.

Trotz der vielfachen vorliegenden Untersuchungen über die Buttersäuregärung ist es vorerst doch nicht möglich, bestimmte Kategorieen derselben zu erkennen, um sie nach bestimmten Gesichtspunkten zu ordnen. Die Zahl derer, welche näher charakterisiert und präcisiert sind und wesentliche Unterschiede in morphologischer wie biologischer Hinsicht aufweisen, ist eine sehr geringe. Alle übrigen entbehren einer Vollständigkeit nach der einen oder anderen Seite und lassen häufig Analogieen erkennen.

Im Nachstehenden sind alle oben beschriebenen Buttersäurebakterien nochmals zusammengefaßt und verglichen.

Bacillus Gruber I, II, III (= Clostrid. Prazmowski).
Granulobacter butyricum Bey. (vielleicht entsprechend Bacillus I Gruber, jedoch nur als Butylferment bekannt).
Granulobacter saccharobutyricum Bey.
Granulobacter lactobutyricum Bey. (= Bacillus butyricus Fitz).
Granulobacter polymyxa Bey. (Buttersäurebildung noch nicht erwiesen).
Bacillus butyricus Hueppe.

Clostrid. foetidum Liborius (wahrscheinlich identisch mit einer Clostridiumart Prazmowski-Gruber).

Bacillus polypiformis, Bacillus muscoides — Untersuchungen unvollständig. Charakter als Buttersäurebakterien nicht erwiesen.

Bacillus butyricus Botkin.

Bacillus butyricus Perdrix.

Bacillus I Kedrowski (ähnelt Bacillus butyricus Botkin und Clostrid. Prazmowski).

Bacillus II Kedrowski (zeigt von I wenig Verschiedenheit).

Bacillus II, III, IV Flügge (unbestimmt).

Bacillus mesentericus vulgatus Flügge, Bacillus liodermos Flügge, Bacillus lactis albus Loeffler — keine eigentlichen Buttersäurebakterien.

Aus dieser Zusammenstellung geht deutlich hervor, daß als genauer bekannt und als feststehende Arten bis jetzt nur eine sehr bescheidene Anzahl betrachtet werden kann. Alle übrigen zeigen sich teils analog mit denselben, teils liegen nur unvollständige Untersuchungen vor. Der Grund hiervon liegt hauptsächlich darin, daß bei mehreren Arbeiten die Buttersäurebakterien nur das Mittel zum Zwecke bildeten, nämlich um daran Anaërobiose etc. zu studieren.

Die Funktionen der einzelnen Buttersäurebakterien scheinen sehr verschieden zu sein; im allgemeinen dürfte die Buttersäurebildung stets mit Fermentbildung begleitet sein. Man kennt neutrale bezw. alkalische und aber auch saure, sog. Buttersäuregärungen, jedoch wird die Zusammensetzung der Nährmaterialien hierfür maßgebend sein. Jedenfalls spielt die Buttersäurebildung dabei fast immer eine untergeordnete Rolle und ist von verschiedenen Umständen abhängig, so daß man von einer eigentlichen Buttersäuregärung gar nicht mehr reden kann.

Die überaus große Verbreitung der Buttersäurebakterien, namentlich auf Getreide und Futtermittel etc., bringt es mit sich, daß dieselben auch in allen landwirtschaftlichen Betrieben zu finden sind. Hier sind sie zwar meistens keine willkommenen Gäste und überall, sowohl in Preßhefefabriken und Brennereien, als auch Bierbrauereien und Molkereien wird gegen sie zu Felde gezogen. Die hartnäckige Widerstandsfähigkeit ihrer Sporen selbst bei längerer und höherer Temperatureinwirkung erschwert jedoch ihre Unterdrückung in bedeutendem Maße. Vielleicht aber kommt doch bestimmten Arten derselben auch eine gute Eigenschaft zu, nämlich, daß dieselben berufen sind, bei der Käsereifung insofern eine wichtige Rolle zu spielen, als sie durch Bildung eines Fermentes den Reifungsprozeß ins Leben rufen, der, auf diese Weise dann eingeleitet, seinen weiteren Fortgang durch die Wirkung des Fermentes nimmt. Diese schon früher von H. Weigmann ausgesprochene Hypothese dürfte immer sichereren Boden gewinnen und harrt nur noch der vollen Bestätigung durch praktische Versuche.

Kiel, Dezember 1894.

Referate.

Fischer, Emil und **Thierfelder, Hans**, Verhalten der verschiedenen Zucker gegen reine Hefen. (Ber. deutsch. chem. Ges. XXVII. 2032.)

Die Verff. geben zunächst eine Uebersicht über die von Tollens, Hansen u. a. ausgeführten Versuche. Gärversuche, welche Emil Fischer schon früher mit künstlichen Zuckerarten angestellt hatte, führten zu dem Schlusse, daß die Gärfähigkeit in naher Beziehung zum geometrischen Bau des Moleküls stehe, mithin geradezu als eine stereochemische Frage bezeichnet werden darf. Von diesem Gesichtspunkt aus erschien es den Verff. erwünscht, die früheren Versuche mit rein gezüchteten Hefen zu wiederholen und noch auf einige andere Zucker auszudehnen.

Folgende 12 Hefen kamen zur Anwendung: 8 von Hansen beschriebene Hefen: S. cerevisiae I, S. Pastorianus I, II, III, S. ellipsoideus I, II, S. Marxianus, S. membranaefaciens, 2 von P. Lindner rein gezüchtete, als „Brauereihefe“ und „Brennereihefe“ bezeichnete, ferner S. productivus, eine sehr energisch wirkende Art von H. Beijerinck, endlich eine morphologisch nicht näher definierte Spezies, welche Milchzucker leicht vergärt und deshalb im folgenden als Milchzuckerhefe bezeichnet wird.

Von Monosacchariden kamen zur Verwendung: d-Mannose, d-Fruktose, d-Galaktose, d-Talose, l-Mannose, l-Gulose, Sorbose, l-Arabinose, α-Glukoheptose, α-Glukooktose; von Disacchariden: Rohrzucker, Maltose und Milchzucker. Anhangsweise wurden noch Methyl- und Aethylglukosid, sowie Glukose-Resorcin, Glukose-Pyrogallol und Glukoseaethylmercaptol in einigen Fällen geprüft.

Soweit die Versuche Wiederholungen älterer darstellen, ergiebt sich eine völlige Uebereinstimmung mit früheren Beobachtungen. Nur die Sorbose wurde abweichend von den Angaben Stone's und Tollens als unvergärbar gefunden, was jedenfalls mit der Anwendung reiner Hefe zusammenhängt, während Stone und Tollens seiner Zeit keine solche zur Verfügung hatten.

Aus den von Emil Fischer und Thierfelder ermittelten Thatsachen im Verein mit den älteren Beobachtungen ergiebt sich, daß von den 9 bekannten Aldohexosen 2, die d-Glukose und die d-Mannose sehr leicht, die d-Galaktose etwas schwerer vergärbar ist. Bei allen übrigen war keine Wirkung der Hefe zu bemerken. Ebenso scharf ist der Unterschied bei den Ketosen, wo nur die d-Fruktose gärfähig ist, während Sorbose und nach früheren Versuchen l-Fruktose unverändert bleiben.

Wie an den Konfigurationsformeln für d-Glukose (Traubenzucker), d-Mannose und d-Galaktose erläutert wird, genügt schon eine kleine Veränderung in der Stellung der Hydroxyle an den vier asymmetrischen Kohlenstaffatomen, um das Gärvermögen aufzuheben. Ein Beispiel dafür bietet die d-Talose, welche zur Galaktose in demselben Verhältnis steht wie die Mannose zur Glukose. Galaktose vergärt schon schwieriger als die beiden anderen, eine kleine geometrische

Verschiebung genügt daher, um die Talose ganz unvergärbar zu machen. Die Hefen sind mithin in Bezug auf die Konfiguration des Moleküls sehr wählerisch; aber die Mehrzahl derselben zeigt doch den gleichen Geschmack; nur einige sind besonders empfindlich, wie Sacch. apiculatus, welcher sogar die Galaktose verschmäht. Dieses Resultat ist um so überraschender, als dieselben Hefen von viel größeren Veränderungen des Moleküls nicht berührt werden, da sie ja, wie aus älteren Versuchen bekannt ist, die Glycerose und die Mannononose vergären.

Daß Mikroorganismen allgemein von zwei optisch isomeren Verbindungen die eine Form bevorzugen, ist durch die Untersuchungen von Pasteur und anderen längst bekannt; aber bei den Hefen und Zuckerarten liegt die Sache nach Emil Fischer und Thierfelder insofern etwas anders, als es sich hier nicht allein um den Gegensatz zwischen optischen Antipoden handelt, sondern auch darum, daß von einer großen Anzahl geometrischer Formen nur einige dem Bedürfnis der Zelle Genüge leisten. Diese Beobachtung werde man voraussichtlich auch bei anderen Mikroorganismen, ferner in anderen organischen Gruppen wiederfinden, vielleicht seien sehr viele chemische Prozesse, die im Organismus sich abspielen, von der Geometrie des Moleküls beeinflußt.

Die Ursache jener Erscheinung suchen Emil Fischer und Thierfelder in der Asymmetrie der Eiweißkörper, welche unter den Agentien, deren sich die lebende Zelle bedient, die Hauptrolle spielen. Sie sind ebenfalls optisch aktiv und da sie aus den Kohlenhydraten der Pflanzen synthetisch entstehen, so darf man wohl annehmen, daß der geometrische Bau ihres Moleküls, was die Asymmetrie betrifft, im wesentlichen dem der natürlichen Hexosen ähnlich ist. Bei dieser Annahme wäre es nicht schwer zu verstehen, daß die Hefen mit ihrem asymmetrisch geformten Agens nur in die Zuckerarten eingreifen und Gärung erregend wirken können, deren Geometrie nicht zu weit von derjenigen des Traubenzuckers abweicht. Allerdings bestehen auch für die natürlichen Hexosen feine Unterschiede in dem Protoplasma der einzelnen Hefen, wie namentlich das Verhalten des S. apiculatus gegen Galaktose beweist. Diese Erfahrung deutet darauf hin, daß Gewöhnung oder Zuchtwahl die Gärwirkung einer Hefenart verändern können. Emil Fischer und Thierfelder haben auch den Versuch unternommen, eine solche chemische Umzüchtung vorzunehmen, allerdings ohne Erfolg, was jedoch nicht ausschließt, daß veränderte Verhältnisse zum Ziele führen.

Prof. Dr. Lintner (München).

Chudiakow, N. v., Untersuchungen über die alkoholische Gärung. (Landwirtschaftl. Jahrbücher. Bd. XXIII. 1894. Heft 2 u. 3. p. 391—534. 5 Taf.)

Die umfangreiche, nahezu 10 Druckbogen Großoktav haltende Arbeit des Verf.'s, deren experimentelles Detail am Schlusse auf rund 34 Seiten tabellarisch zusammengestellt ist, zerfällt äußerlich in eine Reihe mehr oder weniger selbständiger Abschnitte, die hier zunächst, um ein übersichtlicheres Bild des Ganzen zu geben, namhaft gemacht werden mögen.

Nach einigen einleitenden Bemerkungen kritischer Art sowie Schilderung der benutzten Untersuchungsmethoden bez. Apparate behandelt Verf. zunächst in einem größeren Kapitel die Gärung in reiner Zuckerlösung (p. 408—428) und schließt daran gleichfalls sehr ausführlich in Abschnitt IV die Erörterung über Einwirkung des Sauerstoffs auf die Gärung (p. 428—460), worauf im V. Abschnitt die Besprechung seiner Untersuchungen über Vermehrung der Hefe bei Gegenwart und bei Abwesenheit von Sauerstoff folgt (p. 460—470). Das folgende Kapitel (VI, p. 470—486) beschäftigt sich mit dem Einfluß der Temperatur auf die Gärung in Medien verschiedener Zusammensetzung, dem sich dann das letzte (VII.) über die intramolekulare Atmung der Hefe anschließt (p. 486—492). Damit ist wenigstens der Inhalt der Arbeit oberflächlich angedeutet, und es erübrigt noch ein etwas genaueres Eingehen auf Gegenstand und Resultat der einzelnen Kapitel, das bei einer experimentellen Untersuchung über die hier genannten, teilweise bereits als erledigt geltenden Fragen immerhin angezeigt ist; zudem handelt es sich bei Studien über die alkoholische Gärung um Erörterung einer Erscheinung, der neben dem theoretischen ein hervorragend praktisches Interesse zukommt, so daß wissenschaftlichen Arbeiten ernsteren Charakters schon dieserhalb Beachtung gesichert ist.

Einleitend deutet Verf. zunächst die Möglichkeit an, daß die „Gärung" sich bezüglich des Verhaltens gegen die Temperatur aus nahe liegenden Gründen der kürzlich von ihm untersuchten intramolekularen Atmung anschließt, und hält die nochmalige experimentelle Prüfung dieser bisher im entgegengesetzten Sinne entschiedenen Frage für angebracht. Nach der augenblicklich giltigen Anschauung existiert für die „Gärung" ein ausgesprochenes Optimum (25—30° C), nicht dagegen für die Atmung, welche mit steigender Temperatur stetig an Intensität zunimmt. Prüft man aber die für erstgenannte Thatsache sprechenden Arbeiten des genaueren auf ihre Beweiskraft, so ergiebt sich da ein berechtigter Zweifel, welcher dann vom Verf. näher ausgeführt wird. Wir können die bezüglichen Darlegungen desselben kurz dahin zusammenfassen, daß die bisherigen Untersucher — was übrigens auch nicht ihre Absicht war — nicht die Thätigkeit der einzelnen Hefezelle in ihrer Abhängigkeit von der Wärme ermittelten, sondern man als deren Maß kurzweg die mehr oder minder schnelle Vergärung der Zuckerlösung betrachtete. Es ist das aber nicht gerechtfertigt, weil hierbei die von der Temperatur sehr abhängige Vermehrung der Hefe — worauf bereits Müller-Thurgau hinwies — nicht in Anschlag gebracht wird, da naturgemäß ein Multiplum von Zellen auch eine schnellere Zuckerzertrümmerung bewirkt, selbst wo dieser Vorgang von seiten der einzelnen Zelle unter solchen Bedingungen träger verläuft. Die angebliche Optimaltemperatur für die „Gärung" ist aber gerade auch für die Vermehrung (28° C nach Pedersen).

Verf. geht also einen eigenen, von dem Anderer abweichenden Weg, ihn interessiert nicht die rein praktische Frage, unter welchen Wärmeverhältnissen die alkoholische Gärung einer Flüssigkeit am

schnellsten verläuft, sondern bei welchen Temperaturgraden die Gärthätigkeit gleichbleibender Hefemengen bez. der einzelnen Zelle am ergiebigsten ist; in diesem Sinne will er auch nur die Bezeichnung „Gärungsoptimum" gelten lassen (trennt es somit gleichsam von dem „Vergärungsoptimum"). Der Schwierigkeiten, welche der Beantwortung seiner Frage insonderheit auch durch die kaum auszuschließende Vermehrung der Hefe entgegenstehen, ist er sich freilich bewußt, und gelangt dann weiterhin bei Gärversuchen in reiner Zuckerlösung nochmals auf die Frage der Sauerstoffwirkung sowohl auf den Gärvorgang wie den der Hefevermehrung.

Die mit kritischen Rückblicken auf die Arbeiten und Ansichten insbesondere älterer Autoren verknüpften Diskussionen der Resultate seiner im Leipziger botanischen Institute unter Pfeffer's Anteilnahme ausgeführten Untersuchungen können unter Verweis auf das Original hier nur im Umrisse wiedergegeben werden, wenn der Umfang des Referates nicht übermäßig weit über den gesteckten Rahmen hinausgehen soll. Bezüglich der Untersuchungsmethoden sei folgendes erwähnt.

Als Maß für die Intensität seiner vergleichenden Gärversuche läßt Verf. die produzierte Kohlensäure gelten; Alkoholbestimmungen wurden nur in einer geringeren Zahl von Fällen ausgeführt. Erstere ist exakter zu bestimmen und aus ihrer Menge läßt sich nach Pasteur die des letzteren im allgemeinen ziemlich sicher berechnen; überdies erfordern Alkoholbestimmungen Unterbrechung des Versuchs. Die Kohlensäurebestimmungen geschahen teilweise mittels des entsprechend abgeänderten Pfeffer-Pettenkofer'schen Apparats (Bestimmung des Einflusses der Nährlösungszusammensetzung auf Gärung und Vermehrung bei An- und Abwesenheit von Sauerstoff), teilweise mit einem besonders beschriebenen, für diesen Zweck konstruierten Apparat (Bestimmung des begünstigenden Einflusses des Sauerstoffs sowie der Gärungsintensität bei verschiedenen Temperaturen). Zwecks Ausschlusses gewisser Fehler (ungleichmäßige Verteilung der Hefezellen, unzureichender Sauerstoffversorg eines Teiles in den entsprechenden Experimenten, nachteilige Wirkung sich anhäufender Kohlensäure) würde den 250 ccm haltenden Gärgefäßen eine besondere, durch Abbildung erläuterte Konstruktion (Verjüngung des unteren Teiles in ein für die Luftzuleitung dienendes Glasrohr) gegeben, welche gleichzeitig ohne Versuchsstörung ein Zulaufenlassen neuer Zuckerlösung gestattete, wie es unter Umständen durch die Aenderung der Nährlösungszusammensetzung (Konsum des Zuckers) geboten ist. Der Anhäufung von Alkohol wurde entsprechendenfalls durch Verwendung möglichst kleiner Hefemengen entgegengearbeitet. Die Absorption der Kohlensäure wurde beim zweiten Apparate durch Natronkalk bewirkt. Während der Versuchsdauer wurde ein kontinuierlicher Strom von Luft oder Wasserstoff — je nach Bedarf — durchgeleitet, so daß die gärende Flüssigkeit hiermit in steter Bewegung gehalten wurde. Die ausführliche Beschreibung von Apparat und Versuchsanordnung sowie anderes über Alkoholbestimmung in den bezüglichen Versuchen etc. muß übrigens im Originale eingesehen werden.

Die für die Versuche benutzte Hefe war eine Unterhefe (wie

sie in den Brauereien zur Verwendung kommt), die durch Waschen und Dekantieren von den anhängenden Verunreinigungen befreit wurde; der Thatsache, daß also eine einheitliche Species oder Rasse bez. sogenannte Reinkulturen nicht vorlagen, glaubt Verf. Bedeutung nicht beilegen zu sollen. Darüber läßt sich vielleicht so ohne weiteres ein Urteil — sei es in diesem oder jenem Sinne — nicht abgeben, und bleibe das dahingestellt. In Hinblick auf die Bedeutung, welche man zur Zeit nicht ganz mit Unrecht und in gerechtfertigtem Widerspruche gegen die Methode früherer Arbeiten diesem Moment beilegt, wäre es Verf. vielleicht ein Leichtes gewesen, durch Genügeleisten auch dieser an sich geringfügigen Forderung irgend welchen Einwänden von vornherein entgegenzutreten, selbst wo solche vielleicht nur mit noch zu erweisenden Möglichkeiten rechnen. — Von der in geeigneter Weise vorbereiteten und in Wasser fein verteilten Hefe würden alsdann unter entsprechenden Vorsichtsmaßregeln im allgemeinen je 60 ccm in die Gärgefäße übertragen, nachdem vorweg durch Kontrollversuche u. a. auch die Vergleichbarkeit dergestalt eingerichteter Versuche wahrscheinlich gemacht war.

Gärung in reinem Zuckerwasser.

Vor dem Eintreten in die Diskussion der eigenen Versuche erörtert Verf. ausführlich die bisher über die Frage der Möglichkeit von Gärungsprozessen in Zuckerlösungen ohne Stickstoff und anorganische Salze vorliegenden Untersuchungen und Anschauungen. Diese ist deshalb wichtig, als sie in Verbindung mit der anderen steht, ob die Gärung von Wachstum und Vermehrung unabhängig ist, und weil weiterhin — falls hier Gärung ohne Vermehrung stattfände — so das beste Mittel gegeben sei, um andere Fragen (Temperatureinfluß, Sauerstoffwirkung) in einfacher Weise zu entscheiden. Ein kurzer Verfolg der vom Verf. gegebenen kritischen Uebersicht der wichtigsten bisherigen Arbeiten möge hier, als von etwas allgemeinerem Interesse, Platz finden.

Pasteur glaubte, daß ohne gleichzeitige Entwickelung und Vermehrung Gärung nicht stattfinden könne, und somit mußte solche auch in reiner Zuckerlösung unterbleiben, da eben jene an die Gegenwart von Phosphaten etc. gebunden sei. Darauf deuten auch die von Pasteur selbst angestellten Versuche mit mehr oder weniger unvollständigen Nährlösungen. Verf. wirft jedoch ein, daß dieselben aus bestimmten Gründen nicht stichhaltig sind und nur die Unmöglichkeit der Vermehrung, aber nicht der Gärung, unter diesen Umständen beweisen; schon bei etwas größeren Hefemengen, wo also auch die Produkte sicherer nachweisbar sind, könne der Ausfall ein anderer sein. Solche hat nun neben Thénard auch Pasteur selbst angestellt und diese führten zu dem entgegengesetzten Resultate, denn es fand Gärung neben Vermehrung statt, letztere auf Kosten der austretenden stickstoffhaltigen Bestandtheile der Hefezellen. Bestätigt wurde das von Duclaux, angezweifelt jedoch u. a. von Liebig, welcher die Gärung als eine das Absterben begleitende Erscheinung, in Zuckerwasser von Wachstum und Vermehrung der Hefezellen unabhängig sein läßt; doch auch diese Liebig'sche

Argumentation ist schwach, da ja die Hefe jederzeit eine gewisse Menge der erforderlichen Nährstoffe an die Lösung abgiebt, solche somit nicht — wie derselbe glaubt — fehlen. Liebig's eigenartige Ansichten über den Gärungsprozeß machten ihm überhaupt ein näheres Verständnis unmöglich; ebenso befand sich Brefeld gegenüber Pasteur im Unrechte, bei diesem ist nach Verf. nur die Erklärung des Prozesses anfechtbar.

Die Thatsache der Hefevermehrung in reinem Zuckerwasser will Verf. vielmehr auf ein anderes Moment zurückführen. Die dafür notwendige stickstoffhaltige Substanz soll nicht mit Pasteur von den lebenden Zellen herrühren, sondern dem Absterben älterer Zellen entstammen, welches den Gärvorgang in reiner Zuckerlösung begleitet und zu einer ins Gewicht fallenden Aenderung ihrer Zusammensetzung führt. Das Thatsächliche dieses Vorgangs vorausgesetzt — und ein nach längerer Zeit in die Wagschale fallendes Mitwirken kann wohl nicht bezweifelt werden — erscheint diese Erklärung annehmbar, aber es will uns bedünken, als ob Verf. demselben wie überhaupt der ganzen Frage eine allzugroße Breite giebt, da ja einem Zusammenwirken beider eigentlich nichts im Wege steht, denn nachgewießenermaßen giebt zumal unter bestimmten Verhältnissen die lebende Hefezelle eine Reihe von Stoffen an das Medium ab, welche keineswegs bloß stickstofffreie Kohlenstoffverbindungen sind. An Untersuchungen über die Lebensdauer der einzelnen Hefezelle als eigentlicher Basis weiterer Erklärungen, zumal für kurzdauernde Versuche, fehlt es überdies bisher.

Uebrigens sieht Verf. die Ursache der allgemeinen Verbreitung der Liebig'schen Ansicht, derzufolge in Zuckerwasser Gärung ohne Vermehrung stattfindet, in dem Umstande, daß so der Gärungsprozeß in ähnliche Beziehung wie die Atmung zum Wachstumsvorgange gesetzt wird, trotzdem sie mangelhaft gestützt sind und auch weiterhin durch Adolf Mayer's Untersuchungen die Pasteur'schen Angaben bestätigt wurden. Brefeld, dessen Verdienst — gemeinschaftlich mit Mayer — die scharfe Trennung des Gärungsprozesses vom Wachstum ist, hat jedenfalls nicht experimentell bewiesen, daß in reiner Zuckerlösung das erste ohne das letztere vor sich gehen kann, und zwar ebensowenig wie Liebig. Nägeli endlich führt zu gunsten dieser auch von ihm vertretenen Annahme keinerlei Thatsachen auf, stützt sich vielmehr bloß auf die Liebig'sche Argumentation.

(Schluß folgt.)

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

DR. WILHELM WINDISCH.

Allgemeines über Bakterien und andere Mikroorganismen.

Itzerott, G., Bakterienkunde. 12°. VIII, 128 p. Mit 48 Abbild. Leipzig (A. Abel) 1894.

Systematik, Morphologie und Biologie der Bakterien und anderer Mikroorganismen.

Bay, C., Sachsia, ein neues Genus der hefenähnlichen, nicht sporentragenden Pilze. (Ber. d. d. bot. Gesellsch. 1894. p. 90—93.)

Gamaleïa, N. F., Heteromorphismus der Bakterien unter dem Einflusse von Lithiumsalzen. (Wratsch. 1894. p. 541, 578.) [Russisch.]

Mac Fadyen, A. und **Blaxall, F. R.**, Thermophilic bacteria. (British med. Journ. 1894. No. 1760. p. 644.)

Smith, T., Modification, temporary and permanent of the physiological character of bacteria in mixed cultures. (Transactions of the Assess. of Amer. physic. Philadelphia. 1894. p. 85—109.)

Allgemeine Gärungsphysiologie.

Brown, Adrian J., The specific character of the fermentative functions of yeast-cells. (The Brewing Trade Review. Vol. IX. No. 104. 1895. p. 9.)

Kellner, O., Ueber die Bereitung von Sake, Shoyu und Miso. (Chemiker-Zeitung. Jhrg. XIX. 1895. No. 6. p. 97. No. 7. p. 120.)

Molkerei.

Flaack, K., „Sterilicon", Milchsterilisierungsapparat. (Deutsche Landwirtsch. Presse. Jahrg XXII. 1895. No. 7. p. 56.)

Freudenreich, Ed. v., Weitere bakteriologische Untersuchungen über den Reifungsprozeß des Emmenthaler Käses. (Schweizerisch. Landw. Jahrb. 1894.)

— —, Beitrag zur Kenntnis der Ursachen des bitteren Käses und der bitteren Milch. (Molkerei-Zeitung. 1895. No. 3. p. 25.)

Brennerei.

Went, F. A. F. C. u. **Prinsen-Geerligs, H. C.**, Beobachtungen über die Hefearten und zuckerbildenden Pilze der Arrakfabrikation. Amsterdam (Johann Mulier) 1895.

Weinbereitung.

Roos, L., Influence de la température des fermentations viniques sur la qualité des vins. (Revue de viticulture. Année I. T. II. 1894. p. 613—614.)

Nahrungs- und Genußmittel, Konserven etc.

Wasser.

Jean, F., L'analyse bactériologique des eaux potables. (Journal d'hygiène. 1894. No. 936. p. 417—418.)

Lamarche, C. de, Les plantes d'eau douce. 8°. 95 p. avec 55 fig. Paris (impr. Colombier) 1894.

Durch Parasiten verursachte Krankheiten der Pflanzen.

Basch, W., Eulenraupen als Rebenfeinde. (Mitt. über Weinbau und Kellerwirtschaft. 1894. No. 10/11. p. 178)

Colonna, L., La peronospora viticola; conferenza. 8°. 21 p. Amelia 1894.

Eisbein, C. J., Die kleinen Feinde des Zuckerrübenbaues. 2. Aufl. gr.-8°. III, 45 p. Mit Abb. und 8 farbigen Tafeln. Berlin (Reinhold Kühn) 1894. 1,25 M.

Eloste, P., Sur une maladie de la Vigne, determinée par l'Aureobasidium Vitis. (Compt. rend. des séances de l'Académie des sciences de Paris. T. CXIX. 1894. No. 12.)

Eriksson, Jakob, Ueber die Spezialisierung des Parasitismus bei den Getreiderostpilzen. (Ber. d. deutschen bot. Gesellschft. Jahr. XII. 1894. p. 292—331.)

Frank, C., Ueber einige neue Krankheiten unserer Kulturpflanzen. (Deutsche Landwirtschafts-Zeitung. 1895. Jahrg. XXXIX. No. 6. p. 38. Nach einem auf der Sitzung vom 15. Januar des Klubs der Landwirte gehaltenen Vortrag.)

Halsted, B. D., Club Root in common Weeds. (Bull. of the Torrey Botanical Club New York. Vol. XXI. 1894. p. 76—78. With 2 fig.)

Hennings, P., Die Septoria-Krankheit neuseeländischer Veronicaarten unserer Gärten. (Zeitschr. für Pflanzenkrankheiten. Bd. IV. 1894. p. 203/204.)
— —, Sterigmatocystis ficuum (Reich.) P. Henn., die Ursache einer schädlichen Krankheit in Feigenfrüchten. (Naturwissenschaftl. Wochenschr. Bd. X. 1895. No. 4. p. 49.)
Juel, H. O., Mykologische Beiträge. I. Zur Kenntnis einiger Uredineen aus den Gebirgsgegenden Skandinaviens. (Öfversigt af Kongl. Vetenskaps-Akademiens förhandlingar. Stockholm 1894. No. 8. p. 409—418.)
Klebhahn, H., Vorläufiger Bericht über im Jahre 1894 angestellte Kulturversuche mit Rostpilzen. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankheiten. 1894. p. 194.)
Lopriori, Giuseppe, Die Schwärze des Getreides. (Landwirtsch. Jahrbücher. Bd. XXIII. 1894. p. 969.)
Prunet, A., La Pourridié de la Vigne. (Revue de Viticulture. Année 1. Tome II. 1894. No. 44.)
— —, Ueber eine auf dem Weinstock schmarotzende Chytridinee. (Comptes rendus. T. CXIX. 1894. p. 572.)
Reich, L. et Alazard, La Gommose ou Maladie du Var. (Revue de Viticulture. Année 1. Tome II. 1894. No. 44.)
Vuillemin, P., Les Puccinies des Thesium. (Bull de la Soc. Mycol. de France. 1894. p. 107.)

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien.

Belfort de la Roque, L. de, La destruction du phyloxéra par le procédé Roucin. 8°. 88 p. et pl. Laval (Impr. Jamin) 1894.
Dastre, Observations sur les moyens employés contre la putréfaction des milieux organiques. (Comptes rendus de la Société de biologie. 1894. 8. décembre.)
Penzig, O., La formalina come liquido conservatore dei preparati vegetali. (Malpighia. Anno VIII. 1894. Fasc. VIII—X.)
Sempotowski, A., Zur Bekämpfung der Kartoffelkrankheit. (Deutsche Landwirtschaftl. Presse. Bd. XXII. 1895. No. 6. p. 51.)
Steglich, Zur Bekämpfung von Getreideschädlingen. (Der Landwirt. Jahrg. XXXI. 1895. No. 8. p. 44.)

Inhalt.

Originalmitteilungen.

Zusammenfassende Uebersichten.

Referate.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

1895. Centralblatt Bd. I. No. 3.

für Bakteriologie und Parasitenkunde.

II. Abteilung.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

CENTRALBLATT
für
Bakteriologie und Parasitenkunde.
Zweite Abteilung:
Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie und Pflanzenpathologie.

In Verbindung mit
Prof. Dr. **Adametz** in Krakau, Dr. W. M. **Beyerinck** in Delft, Prof. Dr. **A. B. Frank** in Berlin, Dr. **v. Freudenreich** in Bern, Prof. Dr. **Emil Chr. Hansen** in Kopenhagen, Dr. **Lindner** in Berlin, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Prof. Dr. **Stutzer** in Bonn, Privatdocent Dr. **Wehmer** in Hannover, Dr. **Weigmann** in Kiel, Dr. **Wilfarth** in Bernburg und Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg
herausgegeben von
Dr. O. Uhlworm in Cassel.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

I. Band. **Jena**, den 23. Februar 1895. **No. 4/5.**

Preis für den Band (26 Nummern) 16 Mark.

Original-Mittheilungen.

Physiologische Studien über Essiggärung und Schnellessigfabrikation.

Zweite Abhandlung.

[Aus dem Physiolog. Laboratorium der Kgl. Versuchsstation für Gärungsgewerbe zu Hohenheim bei Stuttgart.]

Von

Dr. Franz Lafar,

Privatdozenten und Assistenten der Station.

II. Die Säuerungskraft von Bacterium aceti Hansen und B. Pasteurianum H. in ihrer Abhängigkeit von der Temperatur.

Mit neun Tabellen und einer lithographierten Tafel.

Die Frage nach der Zweckmäßigkeit der Einführung reingezüchteter Gärerreger in den Betrieb der Essigfabrikation kann erst dann von praktischer Bedeutung werden, wenn nachgewiesen ist, daß

es verschiedene Arten von Essigsäurebildnern giebt: verschieden nicht bloß in botanisch-morphologischer, sondern auch in chemisch-physiologischer Hinsicht. Alle Bestrebungen in dieser Richtung werden daher vor allem ihre Berechtigung dazu durch den Nachweis darthun müssen, daß es Essigsäurebildner mit verschiedenen Gärungsgleichungen giebt. — Ein solcher Nachweis soll in der vorliegenden wie auch in einigen ihr folgenden Abhandlungen erbracht werden.

Gegenstand der hier mitzuteilenden Untersuchungen sind zwei von E. Ch. Hansen (1) aufgefundene Essigsäurebakterien, nämlich B. aceti H. und B. Pasteurianum. — Im Sommer 1892, als dem Zeitpunkte, zu welchem meine Untersuchungen auf dem im Titel bezeichneten Spezialfache begannen, war über diese beiden Arten nicht mehr bekannt als die kurze Beschreibung, mit der sie ihr Entdecker im Jahre 1879 in die Litteratur eingeführt hatte. Eine nähere Kennzeichnung in chemisch-physiologischer Hinsicht fehlte. Diese zu geben, lag aber auch gar nicht in der Absicht des dänischen Physiologen, der in seiner Arbeit ein anderes, zu jener Zeit viel wichtigeres Ziel im Auge hatte, und zwar festzustellen, daß die bis dahin gehegte Meinung von der Arteinheit der Essigsäurebildner ein haltloses Vorurteil war. Dieser Nachweis ist der wichtigste Schritt, den die Lehre von der Essiggärung seit Kützing's grundlegender Arbeit gethan hat. Alle Abhandlungen, welche seitdem, diese Frage betreffend, geliefert worden sind, gehen über den von Hansen ausgesprochenen Gedanken nicht hinaus, sondern versuchen nur, in denselben Mannigfaltigkeit zu bringen, dadurch, daß sie noch weitere Arten von essigbildenden Mikroben kennen lehren, wie solches z. B. in den diesbezüglichen Veröffentlichungen von W. L. Peters (2), von A. Zeidler (3), von H. Wermischeff (4) und von Fr. Lafar (5) geschieht. Eine Ausnahme in gewisser Hinsicht machen die Arbeiten von A. J. Brown, auf die später noch geblickt werden soll und die hier nur zu der einen Bemerkung veranlassen, daß der darin behandelte und als B. aceti bezeichnete Mikrobe nicht identisch ist mit der gleichnamigen Hansen'schen Art.

Eine ausschließlich auf botanische Merkmale sich stützende Unterscheidung der einzelnen essigbildenden Organismen mag für die Bedürfnisse rein wissenschaftlicher Systematik ausreichend sein — für die Bewertung der Gärerreger in praktisch-technischer Hinsicht ist dies jedoch nicht genügend. Hier wird ein ganz anderes Moment entscheidend und das ist die Gärungsgleichung. Der Leser wird bei diesem Worte an die Umsetzungsgleichungen der Chemie sich erinnern, beispielsweise an eine solche von der Form

$$C_2H_6O + O_2 = C_2H_4O_2 + H_2O.$$

Diese durch Symbole dargestellte Beziehung zwischen Art und Menge der in eine chemische Reaktion eintretenden und aus derselben hervorgehenden Atomgruppen deckt sich jedoch nicht mit demjenigen, was ich unter dem hervorgehobenen Worte begreife. Vielmehr, ich lege demselben eine weit allgemeinere Definition unter und verstehe unter Gärungsgleichung den Ausdruck des

gegenseitigen Zusammenhangs aller bei einer bestimmten Gärung in Betracht kommenden Faktoren.

Einer der wichtigsten derselben ist die Temperatur. Den Einfluß dieser auf die Säurebildung zu studieren, war Hauptgegenstand der Untersuchungen, über welche in der Folge berichtet werden soll. Dieselben, von ihrem Abschlusse noch weit entfernt, haben mich die verflossenen zwei Jahre hindurch beschäftigt; es sind langwierige Arbeiten, die ohne das fördernde Wohlwollen meines verehrten Chefs, des Herrn Prof. Dr. Paul Behrend, nicht hätten zustande kommen können. Ihm auch an dieser Stelle dafür herzlich zu danken, ist mir daher angenehme Pflicht.

Wenn es sich ausschließlich darum gehandelt hätte, den Zusammenhang zu studieren, der zwischen Temperatur und Säuerungsgeschwindigkeit obwaltet, dann würde hierfür dasjenige Arbeitsverfahren als das nicht nur bequemste, sondern auch zuverlässigste sich empfohlen haben, bei dem zum Zwecke der öfter vorzunehmenden Feststellung des allmählichen Anwachsens des Säuregehaltes stets von ein und derselben, ausreichend groß bemessenen Versuchsflüssigkeit Probe gezogen wird. Nun waren aber außer der bezeichneten Hauptfrage noch einige Nebenfragen ins Auge zu fassen, so insbesondere der Wechsel in der Zusammensetzung der aus der Aussaat sich entwickelnden Haut, der Uebergang der einzelnen Zellformen derselben in einander u. s. f. Mit Rücksicht auf diese und auf einige andere, später zu berührende Nebenfragen wurde jenes Arbeitsverfahren gewählt, das in der vorhergehenden Abhandlung, auf p. 693 des XIII. Bd. d. Centralbl. f. Bakteriol., beschrieben worden ist, also Züchtung in einer Reihe von Kölbchen, von denen jedes ununterbrochen keimdicht verschlossen bleibt von dem Augenblicke der Beimpfung ab bis zu jenem Tage, an dem es, seiner Reihennummer entsprechend, der Untersuchung unterzogen werden soll. Es kam ausschließlich sterilisiertes Bier (mit oder ohne Zusatz von Alkohol) zur Verwendung. Die Menge der Aussaat betrug, wenn Gegenteiliges nicht bemerkt ist, je eine kleine Platinöse voll. Diese Gabe für jedes der Kölbchen einer Versuchsreihe gleich groß zu bemessen, ist schwierig, und darin liegt der Nachteil, welcher der in Rede stehenden Versuchsanordnung anhaftet. Denn wenn man dieser Forderung nicht sorgfältig genug entsprochen hat, so fällt das Bild des Verlaufes der Säuerung mehr oder weniger verzerrt aus: das mit zuviel Zellen beschickte Kölbchen läuft den anderen in der Umwandelung seines Inhaltes voraus, andererseits hat ein Zuwenig in der Aussaat eine Verzögerung des Eintrittes und Verlangsamung des Verlaufes der Säuerung zur Folge. Im einen wie im anderen Falle wird das Ergebnis der seinerzeitigen Bestimmung des Alkoholgehaltes der Probe auf den unbewußterweise begangenen Fehler rückschließen lassen.

Die Angabe der besonderen Veranstaltung des einzelnen Versuches eröffnet, unter die drei Schlagworte Nährboden, Aussaat und Temperatur verteilt, die Darstellung des Verlaufes desselben. Das Ergebnis der Prüfung der einzelnen Kölbchen ist in tabellarischer Form verzeichnet worden. Die zum Zwecke der Bestimmung des Säuregehaltes der Proben benutzten Laugen hatten

folgende, auf ein ccm bezogene und bereits auf g Essigsäure umgerechnete Alkalinität, und zwar

A = 0,00567 B = 0,0437
C = 0,00461 D = 0,0461.

Die Zeichen, welche für die Darstellung des Befundes der physiologischen Beurteilung der Aussaat bezw. der daraus hervorgegangenen Hautdecke gebraucht worden sind, haben folgende Bedeutung:

+ vorhanden § überwiegend o selten
— fehlend * häufig

Die Worte „die Haut enthält" beziehen sich in jenen Fällen, in denen eine Entwickelung der Aussaat nicht eingetreten war, auf die Zusammensetzung dieser letzteren selbst.

Die Prüfung darauf, ob eine bestimmte Probe noch lebende Zellen der betreffenden Art enthielt, wurde auf zweierlei Art vorgenommen. Entweder impfte man ein wenig von dem zu prüfenden Häutchen auf frischen Nährboden ähnlicher Art über und hielt diesen hierauf bei günstiger Temperatur, was in der Tabelle durch den Buchstaben „ü" angedeutet ist — oder aber man stellte das betr. Kölbchen selbst, uneröffnet und ungeändert, in eine wärmere Zelle des Thermostaten über, in welchem Falle der Buchstabe T in der Anmerkung sich vorfindet.

Die Art der Färbung der Haut mit Jodlösung wird versinnlicht durch die Buchstaben:

j = gelb gr = grün
m = marmoriert b = blau.

Erster Versuch.

Bacterium Pasteurianum bei 33—34° C.

No. 311—330. Versuchsdauer 26./6.—3./8. 1893.

Nährboden: Helles Lagerbier wird durch Kochen entgeistet und hierauf mit Wasser auf das ursprüngliche Maß wieder aufgefüllt. Davon werden je 125 ccm in Erlenmeyerkölbchen gebracht, mit Wattepfropf verschlossen, mit Papierkappe versehen, verbunden und dreimal durch je 25 Minuten im strömenden Dampfe erhitzt. Vor der Benutzung erhält jedes Kölbchen 6 ccm Alkohol.

Aussaat: Eine auf Lagerbier bei 33° C herangezüchtete, fünf Tage alte Kultur von B. Past. Sie besteht nur aus Ketten normaler Kurzstäbchen und färbt sich mit Jod blau.

Die Temperatur des Thermostaten, welcher die Kölbchen beherbergte, schwankte während der Versuchsdauer zwischen 31,9° und 33,8°, näherte sich diesen Grenzen nur einige Male und nur für kurze Zeit und verblieb sonst zwischen 33,3° und 33,5° C.

Von den Versuchsergebnissen, welche auf p. 133 in der Tab. I zusammengestellt sind, seien diejenigen der Spalten 8 und 10 hervorgehoben. Aus der ersteren ersieht man, daß der Gehalt der Proben an Essigsäure von Null an allmählich aufstieg, bei 4,2 g (= 3,3 Proz.) das Maximum erreichte und dann wieder zurückging.

Tab. I: Bacterium Pasteurianum H. bei 33—34° C.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	a	b	c	d	e	f	g	i	k
			Chemische Untersuchung							Physiologische Prüfung								
				10 ccm =		Essigsäuregehalt						Die Haut enthält						
												Kurzstäbchen						
No. des Kölbchens	Datum der Untersuchung 1893	Seit Versuchsbeginn sind verstrichen Tage	Menge der Probe	Lauge A ccm	Lauge B ccm	Gew.-Proz.	Gesamtmenge g	Veränderung g	Alkohol Vol.-Proz.	Enthält die Probe lebende Zellen?	Hat die Aussaat sich vermehrt?	zu Ketten vereint	außer Verband	Langstäbchen	Involutionsformen	Reaktion der Haut mit Jod	Anmerkung	No. des Kölbchens
313	27. 6.		126	1,65		0,00	0,000		3,71	—							Acidität dies. Kontrollkölbchen, auf Essigs. berechn., im Mittel je 0,115 g	313
12	15. 7.		124	1,60		0,00	0,000			—								12
11	29. 7.		119,5	1,70		0,00	0,000			—								11
321	28. 6.	$1^1/_2$	127	7,60		0,25	0,317	+ 0,317	3,07	+	+	+	—	—	—	m		321
19	29.	$2^1/_2$	126	17,50		0,90	1,134	+ 0,817	2,58	+	+	+	—	—	—	gr	ü	19
25	30.	$3^1/_2$	127		3,26	1,33	1,693	+ 0,559	2,02	+	+	+	—	—	—	b		25
14	1. 7.	$4^1/_2$	127		4,15	1,72	2,188	+ 0,495	1,54	+	+	+	—	—	—	j		14
22	3.	7	127		6,75	2,86	3.632	+ 1,444	0,27	+	+	+	—	—	—	b	ü	22
23	3.	7	126,5		7,80	3,32	4,196	+ 0,564	0,00	+	+	§	+	—	—	j	ü	23
24	4.	8	126,5		7,35	3,12	3,948	— 0,248		+	+	+	—	—	—	j	ü	24
26	4.	8	126,5		7.25	3,07	3,892	— 0,056		+	+	+	+	—	—	j	ü	26
15	7.	11	126		6,20	2,62	3.297	— 0,595		+	+	§	—	—	+	j	ü	15
16	10.	14	125,5		4,90	2,05	2,572	— 0,725		+	+	+	§	—	—	j	ü	16
17	13.	17	125		3,75	1,55	1,934	— 0,638		+	+	+	§	—	—	j	ü	17
18	17.	21	123,5	11,50		0,56	0,690	— 1,244	0,00	+	+	+	+	—	+	j	ü	18
27	19.	23	122	13,55		0,66	0,810	— 1,124		+	+	+	+	—	+	j	ü	27
29	22.	26	123	9,95		0,47	0,579	— 0,231		+	+	+	+	—	+	j	ü	29
30	24.	28	123	5,50		0,22	0,268	— 0,311		+	+	+	+	—	+	j	ü Haut beginnt sich zu rollen	30
28	29.	33	122	2,45		0,04	0.055	— 0,213		+	+	+	+	—	+	j	ü	28
320	3. 8.	38	120	2,80		0,06	0,076	— 0,192		+	+	+	+	—	+	j	ü	320

Er betrug bei dem zuletzt untersuchten Kölbchen nur noch 0,06 Proz. und würde wohl noch weiter gesunken sein, wenn man den Versuch genügend lang ausgedehnt hätte. Dieses Absteigen zur Null erfolgte viel langsamer, als das Ansteigen zum Wendepunkte. Denn während der Höchstgehalt schon nach Ablauf von 7 Tagen erreicht war, bedurfte es hierauf mehr als 31 Tage, um wieder auf Null zurückzukommen.

Das mit Kölbchen 315 beginnende Sinken des Säuregehaltes muß man wohl — vergl. Spalte a der Tabelle — auf Rechnung der Lebensthätigkeit des Bakteriums setzen, welches die von ihm anfänglich erzeugte Essigsäure späterhin wieder verbrannte. Diese Thatsache ist schon von Pasteur festgestellt worden, wenn auch nicht an dem damals noch nicht bekannten B. Pasteurianum, so doch an einer anderen Essigsäurebakterie, allerdings von sehr zweifelhafter Reinheit. Wodurch aber mein Befund von dem des französischen Forschers abweicht, das ist die aus Spalte 10 abzuleitende Folgerung, daß die Verbrennung der Essigsäure nicht erst dann beginnt, wenn aller Alkohol verbraucht ist. Vielmehr die Weiterverarbeitung der durch Oxydation eines Teiles des Alkohols entstandenen Essigsäure setzt schon zu einer Zeit ein, wo von jenem noch erhebliche Mengen unverändert und der Ueberführung in Säure gewärtig sind. Die nähere Betrachtung dieser Seite der Essiggärung ist einer folgenden Abhandlung vorbehalten worden.

Noch haben wir kein Wort gesprochen über die Zusammensetzung der Haut. Aus den Spalten c—f ist zu ersehen, daß die Kölbchen während des Aufsteigens der Säuerungskurve nur Ketten von Kurzstäbchen enthielten und daß erst dann, als das Maximum des Säuregehaltes erreicht und die Alkoholnahrung ausgegangen war, das mikroskopische Bild der Haut sich änderte: die Ketten lösten allmählich ihren Verband, Involutionsformen traten auf.

Der Zusammenhang zwischen dem Verschwinden der anfänglich gebildeten Essigsäure und dem Gehalte solcher Kölbchen an lebendigen Zellen des in Rede stehenden Bakteriums wird noch deutlicher sichtbar gemacht durch die folgenden zwei Versuche, die bei niedrigeren Temperaturen als wie der vorige angestellt worden sind.

Zweiter Versuch.

B. Pasteurianum bei 15—18° C.

No. 51—72. Versuchsdauer: 24./2—7./6. 1893.

Nährboden: Je 50 ccm helles Lagerbier in Erlenmeyer-Kölbchen 3 mal je 20 Min. erhitzt. Zusatz von je 2 ccm Alkohol vor der Beimpfung.

Aussaat: 3 Wochen alte, auf Lagerbier herangezüchtete Kultur von B. Past.

Temperatur: Sie betrug zu Beginn 15° und erhob sich, von kleinen Schwankungen abgesehen, allmählich zur Endtemperatur von 18° C.

Von den auf p. 135 in der Tabelle II zusammengestellten Versuchsergebnissen sei zuerst die Geschwindigkeit des Ansteigens des

Tab. II. Bacterium Pasteurianum H. bei 15—18° C.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	a	b	c	d	e	f	g	h	i	k	l	m	n
			Chemische Untersuchung						Physiologische Prüfung												
				10 ccm =		Gehalt an Essig-S.					Die Haut enthält				Der Hautring enthält			Reaktion mit Jod			
											Kurzstäbchen										
No. des Kölbchens	Datum der Untersuchung 1893	Seit Versuchsbeginn sind verstrichen Tage	Menge der Probe ccm	Lauge A ccm	Lauge B ccm	Gew.-Proz.	Gesamtmenge g	Veränderung g	Enthält die Probe lebende Zellen?	Hat die Aussaat sich vermehrt?	zu Ketten vereint	außer Verband	Fadenformen	Blasige Involutionsformen	Ketten norm. Kurzstäbch.	Fadenformen	Blasige Involutionsform.	der Kurzstäbchen	der Involutionsformen	Anmerkung	No. des Kölbchens
51	26. 2.	$1^1/_2$	43	2,85		0,01	0,002	+0,002		+											51
2	27.	3	40	3,10		0,01	0,003	+0,001		+	§	—	o	—							2
3	28.	4	44	3,35		0,37	0,016	+0,013		+	§	—	o	—							3
4	1. 3.	5	42	12,35		0,54	0,227	+0,210		+	§	—	+	+							4
5	2.	6	42,5		4,15	1,65	0,704	+0,477		+	§	—	—	o							5
6	3.	7	43		6,80	2,81	1,210	+0,506		+	§	—	o	o	+	+	+				6
7	4.	8	43		9,50	3,84	1,652	+0,442		+	§	—	o	—	+	+	+				7
8	6.	10	43		12,30	5,22	2,244	+0,592		+	§	—	o	o	+	+	+				8
59	9.	13	44		12,85	5,44	2,394	+0,150		+	+	—	—	—	+	+	+				9
60	14.	18	44		12,85	5,44	2,394	+0,000		+	§	—	+	—	§	+	+				60
1	22.	26	42		11,50	4,86	2,043			+	+	—	+	*							1
2	29.	33	42		10,90	4,60	1,933			+	§	—	+	*						Zell-Inhalt der Involutionsformen stark differenziert	2
3	11. 4.	46	42,5		10,80	4,56	1,938			+	§	—	+	+							3
4	21.	56	44,5		12,90	5,48	2,441		—	+	§	—	+	+							4
5	25.	60	41	16,85		0,79	0,324		+	+	§	—	+	+				b	j		5
6	6. 5.	71	43,5		12,95	5,50	2,394		—	+	§	—	+	+				b	j	ü	6
7	11.	76	41	22,10		1,09	0,446		+	+	+	—	+	*				b	j	ü	7
8	24.	79	41		11,60	4,90	2,011		—	+	+	—	+	*				m	j	ü	8
9	31.	86	39		3,75	1,46	0,572		+	+	+	—	+	+				m	j	ü	9
70	7. 6.	93	40		11,30	4,77	1,908		+	+	+	—	+	+				gr	j	ü	70
71	21. 4.	56	40,5	3,00					—											Kontroll-Kölbchen. Acidität als Essig-S. berechnet: im Mittel je 0,067 g	71
72	7. 6.	93	38	3,10					—												72

Säuregehaltes mit ein paar Worten bedacht. Während bei 33—34° die Menge von 4,2 g Essigsäure pro Kölbchen (No. 323) binnen 7 Tagen erzeugt worden war, bedurfte es bei 15° ungefähr der doppelten Zeit um annähernd halb so viel Säure pro Kölbchen (No. 59) hervorzubringen. — Mehr noch als der Verlauf ihrer Bildung interessiert uns aber die Verursachung des darauf folgenden Verschwindens der Säure. In dem vorhergehenden Versuche haben wir den Gehalt der Proben daran bald nach Erreichung des Maximums (No. 323) rasch wieder sinken sehen und damit im Zusammenhange die Anwesenheit lebender Zellen von B. Past. feststellen können. Betrachten wir nun einmal die Kölbchen 63 bis 69 daraufhin. Sie lassen eine Sonderung zu. In denjenigen der einen Gruppe derselben, die Nummern 64, 66, 68 umfassend, waren durch Ursachen, die hier nicht zu erörtern sind, die Zellen der Haut einige Zeit nach Beendigung der Säuerung abgestorben; der Gehalt dieser Kölbchen an Essigsäure wurde dem Maximum annähernd gleich befunden. In den drei Kölbchen der anderen, aus den No. 65, 67, 69 bestehenden Gruppe hingegen barg die Haut auch später noch lebende Zellen; der Gehalt der Flüssigkeit an Essigsäure betrug nur mehr ein Drittel bis ein Achtel der Maximalmenge.

Der dritte Versuch wird nun eine Reihe von Kölbchen vorführen, in denen allen die säuernde Haut bald nach beendigter Oxydation des Alkohols abgestorben und infolge hiervon der Säuregehalt eines jeden derselben erhalten geblieben ist.

Dritter Versuch.

Bacterium Pasteurianum bei 10—14° C.

No. 76—100. Versuchsdauer: 7./3.—21./7. 1893.

Nährboden: Wie beim vorhergehenden Versuche.

Aussaat: Eine 12 Tage alte Kultur auf Lagerbier.

Temperatur: Zu Beginn 10° betragend, erhob sie sich allmählich; Ende April, als dem Zeitpunkte der Erreichung des Säure-Höchstgehaltes, war sie bei 12° C angelangt und stand zu Ende bei 14° C.

Wie aus Spalte a der auf p. 137 enthaltenen Tabelle III zu entnehmen ist, erlosch kurze Zeit nach Erreichung des Maximalgehaltes an Essigsäure das Leben in den Häuten aller dazumal noch vorhandenen Kölbchen. Die Prüfung auf Anwesenheit entwickelungsfähiger Zellen von B. Past. erhielt das letzte mal eine bejahende Antwort bei jenem Kölbchen (No. 86), mit dem die Säuerung ihren Wendepunkt erreichte. Im Zusammenhange damit sehen wir (in Spalte 8) den Gehalt der Proben an Essigsäure von da ab zwei Monate hindurch immer auf annähernd der gleichen Höhe unverändert sich erhalten.

Die bisher mitgeteilten Thatsachen führen zu dem Schlusse: Dem Bacterium Pasteurianum wohnt die Fähigkeit inne, unter gewissen, noch zu erforschenden Bedingungen die von ihm aus Alkohol gebildete Essigsäure zu verbrennen.

Wie es kommt, daß das Bacterium in dem einen Falle

Tab. III. Bacterium Pasteurianum H. bei 10—14° C.

1	2	3	4	5	6	7	8	a	b	c	d	e	f	g	h
			Chemische Untersuchung					Physiologische Prüfung							
				10 ccm =		Essig-Säure			Die Haut enthält						
									Kurzstäbchen						
No. des Kölbchens	Datum der Untersuchung 1893	Seit Versuchsbeginn sind verstrichen Tage	Menge der Probe ccm	Lauge A ccm	Lauge B ccm	Gew.-Proz.	Gesamtmenge g	Enthält die Probe lebende Zellen?	zu Ketten vereint	außer Verband	Fadenformen	Blasige Formen	Reaktion der Haut mit Jod	Anmerkung	No. des Kölbchens
76	11. 3.	3,5	42	3,05		0,01	0,004		+	—	—	—	b		76
7	13.	5,5	42,5	3,90		0,06	0,026		§	—	—	O	b		7
8	14.	7	43	4,40		0,09	0,039		§	—	—	O	b	Kurzstäbchen meist plump	8
9	18.	10,5	42,5	9,30		0,37	0,156		§	—	—	O	b		9
80	22.	14	41		4,25	1,69	0,693		§	—	—	O	b		80
1	24.	16	44		8,90	3,73	1,642		§	—	—	O	b	Kurzstäbchen fast ausnahmlos plump	1
2	26.	18	42		11,90	5,03	2,115		§	—	O	—	b		2
3	28.	21	42,5		11,90	5,04	2,141		§	—	O	O	m		3
4	5. 4.	29	42		11,85	5,05	2,102		§	—	O	O	b		4
5	17.	41	43,5		11,85	5,01	2,180		§	—	—	O	b		5
86	29. 4.	52	43		12,10	5,12	2,201	+	+	§	—	+	m	ü	86
87	11. 5.	67	42		11,50	4,86	2,041	—	+	+	—	+	m		87
8	23.	79	41		11,50	4,86	1,991	—	+	+	—	+	m		8
9	31.	87	41		11,55	4,87	2,000	—	+	+	—	+	m		9
90	9. 6.	96	40		11,25	4,74	1,898	—	+	+	—	+	m		90
1	13.	100	40		11,35	4,79	1,915	—	O	*	—	§	m		1
2	20.	107	39,5		11,15	4,69	1,854	—	+	*	—	*	m		2
3	29.	116	39,5		11,55	4,87	1,926	—	+	*	—	*	m	ü	3
4	29.	116	40,5		11,60	4,90	1,984	—	+	+	+	+	m		4
5	6. 7	123	40		11,15	4,70	1,879	—	+	+	+	+	m		5
6	14.	131	40,5		11,40	4,81	1,948	—	+	+	+	+	m		6
7	19.	136	40,5		11,40	4,81	1,948	—	-	+	+	§	m		7
8	19.	136	40		11,05	4,66	1,863	—	O	+	+	§	m		8
99	21. 7.	138	38,5		11,35	4,78	1,841	—	+	+	+	+	m	Kontroll-Kölbchen. Gesamt-Acidität auf	99
100	2. 8.	150	44	2,75				—						Essig-S. berechnet = 0,069 g	100

in der von ihm erzeugten Säure umkommt, in einem anderen Falle aber sich derselben erwehrt, ihr eigenes Stoffwechselprodukt wieder aufzehrt und sich am Leben erhält — dies soll, so hoffe ich, in einer folgenden Abhandlung seine Erklärung finden. —

Als ergänzendes Verbindungsglied zwischen den bisher mitgeteilten, bei 10—14°, bei 15—18° und bei 33—34° angestellten Versuchen kann der nachstehend angeführte dienen.

Vierter Versuch.

Bacterium Pasteurianum bei 24—25° C.

No. 26—50. Versuchsdauer: 1./2.—31./3. 1893.

Nährboden: Je 100 ccm helles Lagerbier in Erlenmeyer-Kölbchen dreimal je 30 Min. erhitzt. Vor Verwendung mit je 5 ccm Alkohol beschickt.

Aussaat: Eine 14 Tage alte, auf Lagerbier herangezüchtete Kultur von B. Past.

Temperatur: Sie verblieb während der ganzen Versuchsdauer zwischen 24,2 und 25,2° und stand meist bei 24,8—25,0° C.

Abgesehen von den in Hinsicht auf den Einfluß der Temperatur zu machenden Folgerungen, gestatten die auf p. 139 in der Tab. IV zusammengestellten Versuchsergebnisse auch, einen Zusammenhang zu vermuten zwischen der Säuerungsgeschwindigkeit — d. i. die in der Zeiteinheit erzeugte Säuremenge — und dem relativen Gehalte der Flüssigkeit an Alkohol, also deren Konzentration. Von den zur Verwendung gekommenen Kölbchen mit Bier war eine Anzahl etwas mehr eingeengt worden als die übrigen. Da nun jede der Proben einen gleich großen Zusatz von Alkohol, nämlich 5 ccm, zugemessen erhielt, so wurde dadurch der Gehalt an diesem Nährstoffe in der Volumseinheit bei den Kölbchen der ersten Art größer als bei den anderen. Dieser Verschiedenheit der Konzentration entsprach eine Verschiedenheit in der Reizwirkung, die nun in dem Ergebnisse der Prüfung der Nummern 26—41 deutlich zum Ausdrucke kommt. An den meisten der in der Spalte 2 angemerkten Tage wurden zwei Kölbchen nacheinander untersucht, davon das eine von geringerer, das andere von stärkerer Konzentration: regelmäßig wies dieses einen höheren Säuregehalt auf als jenes, obwohl beide in jeder anderen Hinsicht ganz gleich behandelt worden waren. —

Die bisher mitgeteilten Beobachtungen, die sich auf Versuche bezogen, die bei höheren oder bei mittleren Temperaturen angestellt worden sind, hatten B. Past. allein zum Gegenstande gehabt, und zwar deshalb, weil dieser Mikrobe bei höheren Wärmegraden eine größere Säuerungskraft entwickelt als B. aceti und daher des ersten Interesses würdiger schien. Anders liegen die Verhältnisse jedoch bei niedrigeren, dem Eispunkte bis auf wenige Grade sich nähernden Temperaturen, denen wir uns mit dem siebenten Versuche zuwenden werden. Den Uebergang hierzu sollen zwei Parallelversuche, mit B. aceti bei 8—10° angestellt, vermitteln.

Tab. IV. Bacterium Pasteurianum H. bei 24—25°.

1	2	3	4	5	6	7	8	a	b	c	d	e	f	g
			Chemische Untersuchung					Physiologische Prüfung						
				10 ccm =		Essig-Säure			Die Haut enthält					
									Kurzstäbchen					
No. des Kölbchens	Datum der Untersuchung 1893	Seit Versuchsbeginn sind verstrichen Tage	Menge der Probe ccm	Lauge A ccm	Lauge B ccm	Gew.-Proz.	Gesamtmenge g	Hat die Aussaat sich vermehrt?	zu Ketten vereint	außer Verband	Involutionsformen	Reaktion der Haut mit Jod	Anmerkung	No. des Kölbchens
26	3. 2.	2	90,0	5,9		0,18	0,164	+	+	—	—			26
27	3	2	88,0	8,5		0,32	0,287	+	+	—	—			27
28	4.	3	87,0	21,3		1,05	0,913	+	*	—	+			28
29	4.	3	85,0	22,5		1,11	0,943	+	*	—	+			29
31	5.	4	90,0	25,5		1,29	1,164	+	*	—	+			31
30	5.	4	88,0	33,0		1,72	1,514	+	*	—	+			30
33	6.	5	92,5	31,1		1,62	1,495	+	*	—	+			33
32	6.	5	86,0	49,2		2,63	2,263	+	+	—	+			32
34	7.	6	90,0		6,50	2,68	2,419	+	*	—	+	b		34
35	7.	6	86,0		6,50	2,66	2,290	+	*	—	+			35
36	8.	7	90,0		6,55	2,71	2,442	+	*	—	+			36
37	8.	7	88,0		7,00	2,90	2,558	+	*	—	+			37
38	10.	9	91,0		9,80	4,14	3,764	+	+	—	+			38
39	10.	9	88,0		12,10	5,14	4,522	+	+	—	+			39
41	12.	11	92,0		14,15	6,04	5,559	+	+	—	+			41
40	12.	11	89,0		15,35	6,56	5,842	+	+	—	+			40
42	14.	13	94,0		15,65	6,70	6,299	+	+	—	+			42
43	14.	13	92,0		15,30	6,55	6,021	+	+	—	+			43
44	16.	15	92,0		15,70	6,72	6,182	+	+	—	+			44
45	19.	18	90,0		15,86	6,78	6,108	+	+	—	+			45
46	26.	25	91,0		15,35	6,56	5,974	+	+	—	+	b		46
47	5. 3.	32	91,0		15,65	6,69	6,094	+	+	—	+			47
48	16.	43	85,0		15,70	6,70	5,702	+	+	*	+			48
49	31. 3.	58	87,5		16,00	6,68	5,946	+	+	*	+			49
50	31. 3.	58	85,0	2,85		0,00							Kontrollkölbchen. Gesamt-Acidität auf Essig-S. berechnet = 0,137 g	50

Fünfter Versuch.

B. aceti H. bei 8—10 ° C.

No. 415—430. Versuchsdauer: 2./5.—10./7. 1894.

Nährboden: Je 125 ccm dunkles Bier in Chamberland-Kölbchen dreimal je 25 Min. erhitzt.

Aussaat: Auf gleichem Nährboden bei 10 ° herangezüchtete, 9 Tage alte Kultur von B. aceti H.

Temperatur: Zu Versuchsbeginn 8 ° C betragend, stieg sie in der Folge langsam, war zur Zeit der Erreichung des Säure-Höchstgehaltes bei 9,5 ° angelangt und stand zu Ende bei 10,5 ° C.

Den auf p. 141 in die Tabelle V eingetragenen Untersuchungsergebnissen sind noch einige Bemerkungen anzufügen, welche sich auf die Zusammensetzung der Haut beziehen. Die zu Ketten vereinten Kurzstäbchen, aus denen eine junge Vegetation von B. aceti aufgebaut ist, zeigen dann größere Abmessungen, wenn die Züchtung bei niedriger Temperatur erfolgt ist. Eine Länge von 1,2 μ und eine Breite von 0,8 μ mögen als normale anzusehen sein für ein bei 20—34 ° C herangewachsenes Zellindividuum; hingegen bei 8 ° entstanden, zeigt es eine Länge von ungefähr 1,6 μ und eine Breite von 1,2 μ. Wie ersichtlich, ist die Zunahme in der Dicke eine verhältnismäßig größere, infolge wovon ein solches Kurzstäbchen dem an schlankere Formen gewöhnten Auge als plump erscheint. Man könnte sich versucht fühlen, diese Dehnung und Verbreiterung der Zellen als Vorstufe zur Bildung von Involutionsformen anzusehen. Dieser Vermutung steht jedoch die aus den Spalten 3 und e zu entnehmende Thatsache hindernd gegenüber, daß die blasig ausgebauchten Zellformen erst vier Wochen nach Versuchsbeginn, zur Zeit der Erreichung des Säuremaximums, auftraten, während die plumpen Kurzstäbchen schon am fünften Tage bemerkt wurden. Ich bin geneigt, das Entstehen der in Rede stehenden gedrungenen Zellgestalten als eine Erscheinung für sich zu betrachten und dem Einflusse der niedrigen Temperatur zuzuschreiben.

Ueber die Involutionsformen von B. aceti und. B. Past., auf deren Gegenwart wir in jedem der bisher berichteten Versuche aufmerksam geworden sind, hat Prof. E. Ch. Hansen in seiner vor wenigen Monaten erschienenen diesbezüglichen Abhandlung (6) eingehende Beobachtungen veröffentlicht, welche die Abhängigkeit der Entstehung und Umwandlung dieser Formen von der Temperatur klargelegt haben. Damit stimmen meine eigenen Untersuchungen, soweit sie sich in gleicher Richtung bewegen, überein. Trotzdem kann ich der Auffassung vom Wesen der Involutionsformen, wie sie mein verehrter Lehrer a. a. O. dargelegt hat, mich nicht anbequemen. Es sind insbesondere die Ergebnisse meiner Beobachtungen über den bisher nicht studierten Einfluß des Säuregehaltes der Flüssigkeit auf die Umbildung der Zellformen, die mich veranlassen, diese bald blasig aufgetriebenen, bald schlauchartig ausgeweiteten Gestalten als krankhafte Entartungen zu erklären. Eine folgende, mit den zugehörigen Abbildungen belegte Abhandlung wird darüber Näheres bringen.

Tab. V. Bacterium aceti H. bei 8—10° C.

1	2	3	4	5	6	7	8	a	b	c	d	e	f	g	h
			Chemische Prüfung					Physiologische Prüfung							
				10 ccm =		Essig-S.	Alkohol			Haut enthält					
										Kurzstäbchen					
No. des Kölbchens	Datum der Untersuchung 1894	Seit Versuchsbeginn sind verstrichen Tage	Menge der Probe ccm	Lauge C ccm	Lauge D ccm	Gesamtmenge g	Vol.-Proz.	Enthält die Probe lebende Zellen?	Hat die Aussaat sich vermehrt	zu Ketten vereint	außer Verband	Involutionsformen	Reaktion der Haut mit Jod	Anmerkung	No. des Kölbchens
415	9. 5.	7	116	6,90		0,115	2,20	+	+	+	—	—		ü Kurzstäbchen etwas plump	415
6	15.	13	116		2,40	1,030	1,66		+	+	—	—			6
7	18.	16	116		3,60	1,671	1,26		+	+	—	—			7
8	21.	19	115		4,20	1,974	0,21	+	+	+	—	—	j	ü	8
9	25.	23	119		3,85	1,859	0,44		+	+	—	—			9
420	28.	26	116		4,60	2,207			+	+	—	—			420
1	31.	29	116		3,90	1,832	0,00		+	§	—	+			1
422	4. 6.	33	114		4,80	2,269			+	+	—	+			422
423	11. 6.	40	115		4,65	2,212		—	+	+	—	+		ü	423
4	22.	51	116		4,40	2,099		—	+	+	—	+		ü	4
5	27.	56	110		4.60	2,089		—	+	+	—	+		ü	5
6	4. 7.	63	116		4,70	2,260	0,00	—	+	+	—	+	j	ü	6
7	10.	69	115		4,55	2,159		—	+	+	—	+		ü	7
428	10.	69	115		4,10	1,920		—	+	+	—	+		ü	428
429	2. 5.	0	113	4,85			2,65	—						Kontroll-Kölbchen. Gesamt-Acidität auf	429
430	5. 6.	34	110	5,00			2,30	—					•	Essig-S. berechnet pro Kölbchen 0,253 g	430

Was jedoch schon hier an dieser Stelle berührt werden muß, das ist der Einfluß des Zustandes der Aussaat auf den Verlauf der Säuerung. Man sollte wohl meinen, es müsse, um diese letztere bald eintreten zu sehen, genügen, eine geeignete, in der Folge bei hinreichend hoher Temperatur zu haltende Nährlösung mit lebenden Zellen, sagen wir z. B. von B. aceti, zu besäen. Daß dem nicht so ist, zeigt ein

Sechster Versuch.

B. aceti H. bei 7—9° C.

No. 375—390. Versuchsdauer 26./2.—28./6. 1894.

Nährboden: Je 125 ccm dunkles Bier in Erlenmeyer-Kölbchen dreimal je 25 Minuten erhitzt. Vor der Verwendung Zusatz von je 5 ccm Alkohol.

Aussaat: Eine auf dunklem Biere bei 15° C herangezüchtete 14 Tage alte Kultur von B. aceti H.

Temperatur: Sie hielt sich die ganze viermonatliche Versuchsdauer hindurch zwischen 7° und 9° C.

Der Zustand der Aussaat ist es, der uns hier, sowohl um seiner selbst als auch wegen seines Einflusses auf Eintritt und Verlauf der Säuerung vor allem interessiert. — Als ein Vorzeichen der beginnenden Entartung, des Absterbens einer Haut von B. aceti und von B. Past. betrachte ich die Neigung derselben, sich zu rollen. Dieselbe stellt sich, nach meinen bisherigen, vielfältigen Erfahrungen, nicht immer und nur dann ein, wenn aller Alkohol des Nährbodens verbraucht ist. Von welchem Einflusse die Höhe des Säuregehaltes ist, vermag ich derzeit noch nicht zu sagen. Ich bin bis jetzt noch nicht imstande, diese Erscheinung willkürlich hervorzurufen. Daß sie jedoch stets ein schlimmes Zeichen ist, kann ich behaupten und der in Rede stehende sechste Versuch wird dies auch darthun.

Die hierzu gewählte Aussaat war in dem oben beschriebenen Zustande, sie hatte starke Neigung, sich zu rollen. Daß die Zellen recht geschwächt und vorerst der Erholung bedürftig waren, kann man aus der ganz beträchtlichen Verzögerung schließen, mit der die Säuerung sich einstellte. Wie aus den auf p. 143 in der Tabelle VI enthaltenen Untersuchungsergebnissen hervorgeht, verstrichen über zweieinhalb Monate, bevor bestimmbare Mengen von Essigsäure auftraten. Bis dahin hatte das eingeimpfte Hautstückchen keinerlei sichtbare Veränderung erfahren. Erst mit Kölbchen 382 änderte sich das Bild. Die Oberfläche der Flüssigkeit bedeckte sich allmählich mit einem von der Aussaat ihren Ausgang nehmenden, dünnen, in der Folge sich rasch verstärkenden Häutchen. Gleichen Schritt damit hielt die nun kräftig ansteigende Säuerung.

Und nun wenden wir uns jener Gruppe von Versuchen zu, die bei der Temperatur von 4—5° C angestellt worden sind und welche ein neues, auf chemisch-physiologischer Grundlage beruhendes Unterscheidungsmerkmal zwischen B. aceti H. und B. Past. haben finden lassen.

Tab. VI. Bacterium aceti H. bei 7—9° C.

1	2	3	4	5	6	7	8	a	b	c	d	e	f	g	h
			Chemische Untersuchung					Physiologische Prüfung							
				10 ccm =		Essigsäure	Alkohol			Die Haut enthält					
										Kurzstäbchen					
No. des Kölbchens	Datum der Untersuchung 1894	Seit Versuchsbeginn sind verstrichen Tage	Menge der Probe ccm	Lauge C ccm	Lauge D ccm	Gesamtmenge g	Vol.-Proz.	Enthält die Probe lebende Zellen?	Hat die Aussaat sich vermehrt?	zu Ketten vereint	außer Verband	Involutionsformen	Färbung der Haut mit Jod	Anmerkung	No. des Kölbchens
375	12. 3.	14	114	2,40		0,000	4,87	+	—	+	—	—	j	ü Kurzstäbchen selten plump	375
6	13.	15						+	—					T. 25°	6
7	28.	30						+	—					T. 15°	7
8	28.	30	115	2,45		0,000	4,73	+	—	+	—	—	}	ü	8
9	11. 4.	44	113	2,50		0,000	4,70	+	—	+	—	—		ü	9
380	2. 5.	65	115	2,50		0,000	4,77	+	—	+	—	—		ü	380
1	15.	78	114	2,50		0,000	4,50	+	—	+	—	—		ü Kurzstäbchen fast stets plump	1
2	23.	86	114	8,60		0,310	4,30	+	+	+	—	—	j	ü Flüssigkeit mit einem Häutchen ganz bedeckt	2
3	29.	92	116	4,95		0,141	4,40	+	+	+	—	—		ü Häutchen schwächer als wie bei 38	3
4	7. 6.	101	114		6,85	3,468	0,80		+	+	—	—			4
5	13.	107	114		7,60	3,932	0,10	+	+	+	—	+		ü	5
6	20.	114	116		8,30	4,307	0,00	+	+	+	—	—		ü	6
388	28.	122	112		5,50	2,709	0,00	+	+	—	+	+	}	ü	388
389	27. 2.		117	2,45			4,72	—						Kontrollkölbchen. Gesamtacidität entsprechend je 0,132 g Essigsäure	389
390	27. 2.		113	2,50			4,77	—							390

Tab. VII. Bacterium Pasteurianum bei 4,5—5° C.

1	2	3	4	5	6	a	b	c	d	e	f	g	h	i	k	l	m
			Chemische Prüfung			Physiologische Untersuchung											
								Das Hautstück weist auf					Färbung mit Jod				
								Kurzstäbchen									
No. des Kölbchens	Datum der Untersuchung 1893	Seit Versuchsbeginn sind verstrichen Tage	Menge der Probe ccm	10 ccm = Lauge A	Gehalt an Essigsäure g	Hat die Aussaat sich vermehrt?	Enthält die Probe lebende Zellen?	zu Ketten vereint	außer Verband	Langstäbchen	Fadenformen	Blasige Formen	eines Hautstückchens	der Ketten von Kurzstäbchen	der Involutionsformen	Anmerkung	No. des Kölbchens
145	20. 4.	14	70	1,95		—	+	§	—	—	—	+	gr	j	b	ü	145
6	25.	10	70	1,85		—	+	§	—	—	—	+	gr	j	b	ü	6
7	6. 5.	30	70	1,70		—	+	§	—	—	—	+	j	j	j	ü	7
8	10.	34	70	1,70	0,000	—	+	§	—	—	+	+	j	j	j	ü	8
9	20.	44	68	1,70		—	+	§	—	—	+	+	gr	b	j	ü	9
150	30.	54	69	1,70		—	+	§	—	—	+	+	j	j	j	ü	150
1	7. 6	62	69	1,75		—	+	§	—	—	+	+	j	j	j	ü	1
2	13.	68				—	+									T	2
3	13.	68				—	+									T	3
4	15.	70				—	+									T	4
5	15	70				—	+									T	5
6	20.	75	68	1,65		—	+	§	—	—	—	+				ü	6
7	25.	80	69	1,70	0,000	—	+									ü	7
8	3. 7.	88	69	1,65		—	+	§	—	—	—	+	j	j	j	ü	8
9	3.	88				—	+									T	9
160	12.	97	68	1,60	0,000	—	—	§	—	—	—	+				ü	160
1	14	99				—	+									T	1
2	18.	103				—	+	§	—	—	—	o	j	j	j	ü	2
163	22.	105				—	+									T	163
164	20. 7.	103	68	1,95	0,000		—									Kontrollkölbchen. Alkoholgehalt: 4,0 Vol.-Proz.	164

Siebenter Versuch.

B. Pasteurianum bei 4,5—5 ° C.

No. 145—164. Versuchsdauer 6./4.—22./7. 1893.

Nährboden: Je 50 ccm helles Bier mit 25 Aq. verdünnt, in Erlenmeyer-Kölbchen dreimal je 20 Minuten erhitzt. Vor Verwendung Zusatz von je 2 ccm Alkohol.

Aussaat: Eine bei 25 ° C auf hellem Lagerbiere herangezüchtete, 5 Tage alte Kultur von B. Pasteurianum. Sie besteht nur aus Ketten normaler Kurzstäbchen und giebt mit Jod Blaufärbung.

Temperatur: Sie betrug zu Versuchsbeginn 5 ° C, stieg im Verlaufe der nächsten vier Tage auf 6 °, ging hierauf binnen derselben Zeitspanne auf 5 ° zurück und hielt sich dann während der darauffolgenden drei Monate beständig zwischen 4,5 ° und 5,0 ° C.

Das wichtigste der auf p. 144 in der Tabelle VII zusammengestellten Ergebnisse der allmählich vorgenommenen Prüfung der Kölbchen dieses Versuches ist die aus den Spalten 6 und b zu erhebende Thatsache, daß das B. Pasteurianum bei 4,5—5 ° C binnen dreieinhalb Monaten eine meßbare Menge von Essigsäure nicht erzeugt hat. Ja vielmehr es sank sogar, wie aus Spalte 5 hervorgeht, die ursprüngliche, von Milchsäure herrührende Acidität des Nährbodens ganz merklich. Es hat somit das Bakterium nicht nur Säure nicht erzeugt, sondern sogar solche noch verbraucht. Eine Vermehrung der Aussaat konnte nicht bemerkt werden, deren Entwickelungsfähigkeit war auch bei Beendigung des Versuches noch erhalten.

Wie verhält sich nun in dieser Hinsicht das B. aceti? — Darauf giebt der folgende Versuch eine überraschende Antwort.

Achter Versuch.

B. aceti H. bei 4—4,5 ° C.

No. 166—186. Versuchsdauer 6./4.—22./7. 1893.

Nährboden: Genau gleich dem zum Parallelversuche mit B. Past. verwendeten.

Aussaat: Eine bei 25 ° C auf hellem Lagerbiere herangezüchtete, 5 Tage alte Kultur von B. aceti H. Sie unterscheidet sich von dem Aussaatmateriale des vorhergehenden Versuches durch einen reichen Gehalt an langfädigen Zellformen neben den der Zahl nach überwiegenden Kurzstäbchen. Jod ruft Gelbfärbung hervor.

Die Temperatur der Thermostatenkammer, in welcher die Kölbchen dieses Versuches aufgestellt waren, hielt sich stets 0,2—0,4 ° C unterhalb der entsprechenden des Parallelversuches mit B. Past.

Wie die auf p. 146 zu findende Tabelle VIII ersehen läßt, lieferte dieser Versuch ein ganz anderes Resultat als der vorhergehende: B. aceti H. vermochte selbst bei 4—4,5 ° eine kräftige Essigsäuregärung durchzuführen, während hingegen durch B. Past. eine solche bei 4,5—5 ° C nicht zustande kam.

Tab. VIII. Bacterium aceti H. bei 4—4,5° C.

1	2	3	4	5	6	7	8	a	b	c	d	e	f	g	h	i
			Chemische Untersuchung					Physiologische Prüfung								
				10 ccm =						Haut enthält						
										Kurzstäbchen						
No. des Kölbchens	Datum der Untersuchung 1893	Seit Versuchsbeginn sind verstrichen Tage	Menge der Probe ccm	Lauge A ccm	Lauge B ccm	Essigsäure-Gesamtmenge g	Alkohol Vol.-Proz.	Enthält die Probe lebende Zellen?	Hat die Aussaat sich vermehrt?	zu Ketten vereint	außer Verband	Fadenformen	Blasige Formen	Färbung der Haut mit Jod	Anmerkung	No. des Kölbchens
166	20 4.	14	70	1,95		0,018		+	—	§	—	—	o		Kurzstäbchen stark plump	166
7	25.	19	70	1.95		0,018		+	—	+	—	+	+			7
8	6. 5.	30	69	4,30		0,119		+	—	+	—	+	+		desgl.	8
9	10.	34	69	3,90		0,093		+	—	+	—	+	+		desgl.	9
170	20.	44	69		4.30	1,237		+	+	§	—	—	o	j	desgl.	170
1	30.	54	68		6,25	1,798		+	+	§	+	o	o			1
2	7. 6.	62	69		8,00	2,353		+	+	§	+	o	o			2
3	12.	67	69	12,05		0,412		+	+	§	+	o	+		Nachzügler	3
174	13.	68	70		8,20	2,449		+	+	§	+	o	+			174
175	20.	75	69		8.25	2,428		+	+	+	+	o	+		ü	175
6	25.	80	68		8,20	2,377		+	+	+	+	o	+			6
7	30.	85	70		8,10	2,419		+	+	+	+	o	+			7
8	6 7.	91	69	6,30		0,187	3,5	+	+	+	+	o	+		Häutchen wenig entwickelt. Nachzügler	8
9	7.	92	69		7,85	2,308		+	+	+	+	o	+			9
180	12.	97	68,5		1,20	0,300	3,3	+	+	+	+	o	+	j	desgl.	180
1	21.	106	69,5		8,35	2,476		+	+	—	+	o	§			1
2	18.	103	69		8,20	2,413		+	+	—	+	o	§			2
3	22.	107	69		8,35	2,459		—	+	—	+	o	§			3
4	22.	107	70		8,35	2,496		+	+	—	+	o	§			4
185	22. 7	107	69,5		8,90	2,642		—	+	—	+	o	§			185
186	30. 6.	85	67	1,56				—							Kontrollkölbchen. Gesamtacidität entsprechend 0,059 g Essigsäure	186

Ich habe diese beiden Versuche unter Bedingungen, die von den bisher geschilderten im wesentlichen nicht verschieden waren, noch mehrmals wiederholt und bin dabei immer zu dem gleichen Ergebnis gekommen. Wenn auch, was ja von vornherein erwartet werden konnte, die Geschwindigkeit, mit der B. aceti die Säuerung bei 4—4,5 ° C vollzieht, eine geringere ist als bei höheren Wärmegraden, so ist diese letztere, soweit meine Erfahrungen reichen, doch eine vollständige.

Bei dieser niedrigen Temperatur macht sich der Einfluß, den die Güte des Nährbodens und die Kräftigkeit der Aussaat auf den Verlauf der Säuerung ausüben, ganz besonders auffällig geltend. Wenn man der Aussaat eine an nicht alkoholischen Nährstoffen ärmere Unterlage bietet, verzögert sich der Eintritt und verlangsamt sich der Verlauf der Säuerung. Um dies zu zeigen, führe ich noch einen Versuch an.

Neunter Versuch.

B. aceti bei 4—4,5 ° C.

No. 356—370. Versuchsdauer: 12./2.—4./7. 1893.

Nährboden: Je 50 ccm helles, entgeistetes Lagerbier mit je 75 Aq. versetzt, in Erlenmeyer-Kölbchen dreimal je 25 Min. erhitzt. Vor Verwendung Zusatz von je 5 ccm Alkohol.

Aussaat: Eine 7 Tage alte, bei 15 ° C auf hellem Lagerbiere herangezüchtete Kultur von B. aceti H.

Temperatur: Dieselbe betrug anfänglich 3 °, stieg bis Mitte April langsam auf 4 ° und hielt sich von da ab bis zur Beendigung des Versuches, von geringen Schwankungen abgesehen, zwischen 4 ° und 4,5 ° C.

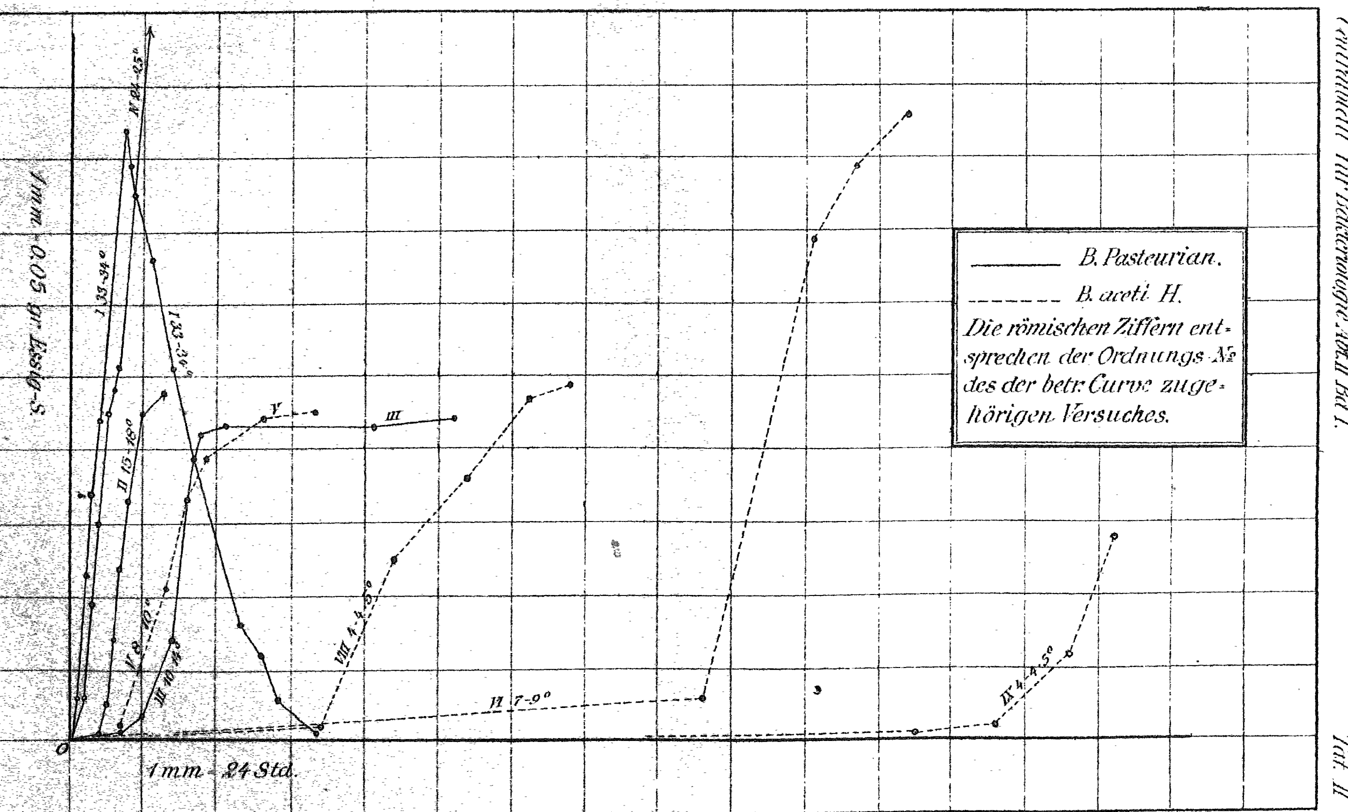
Man könnte im ersten Augenblicke der Betrachtung geneigt sein, die im Vergleiche zum vorhergehenden Versuche höchst auffällige Verspätung des Eintrittes der Säuerung, wie sie aus den auf p. 148 in der Tabelle IX zusammengestellten Untersuchungsergebnissen ersichtlich ist, der zu niedrigen Temperatur von 3—4 ° zuzuschreiben, der die Kölbchen anfangs ausgesetzt waren. Man wird jedoch durch eine Vergleichung der Spalten 2 und 8 bald inne werden, daß dieser Grund nicht zureichend ist. Denn die Temperatur hatte schon Mitte April die Höhe von 4 ° C des vorhergehenden Versuches erreicht, während erst Mitte Juni die Vermehrung der Aussaat merkbar; die Säuerung kräftiger zu werden begann. Nicht die niedrige Temperatur, sondern die Mangelhaftigkeit des Nährbodens war es, welche hier deutlich zur Geltung kam. —

Die Reaktion mit Jod, welche die Häute der beiden in Rede stehenden Bakterienarten geben, ist, obwohl in den Tabellen stets verzeichnet, in den einzelnen Fällen einer Besprechung nicht unterzogen worden. Sie ist von meinem verehrten Lehrer so eingehend studiert worden, daß nur noch eine geringe Nachlese übrig bleibt.

Bezüglich des B. aceti, dessen Häute durch dieses Agens bekanntlich stets gelbe Färbung erhalten, kann die Bemerkung ge-

Tab. IX. Bacterium aceti H. bei 4—4,5° C.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	a	b	c	d	e	f	g		h	i
			Chemische Untersuchung						Physiologische Untersuchung									
				10 ccm =		Essigsäure					Die Haut enthält							
											Kurzstäbchen							
No. des Kölbchens	Datum der Untersuchung 1894	Seit Versuchsbeginn sind verstrichen Tage	Menge der Probe ccm	Lauge C ccm	Lauge D ccm	Gew.-Proz.	Gesamtmenge g	Alkohol Gesamtmenge g	Enthält die Probe lebende Zellen?	Hat die Aussaat sich vermehrt?	zu Ketten vereint	außer Verband	Langstäbchen	Fadenformen	Blasige Formen	Färbung der Haut durch Jod	Anmerkung	No. des Kölbchens
356	26. 2.	14	111	1,35		0,01	0,008	3,57	+	—	+	—					ü	356
7	6. 3.	22							+	—							T. 25°	7
8	12.	28	112	1,30		0,01	0,006	3,56	+	—	§	—	+	—	o		ü	8
9	27.	43	115	1,30		0,01	0,008	3,48	+	—	—	o	§	—	+		ü	9
360	11. 4.	58							+	—							T. 15°	360
1	24.	71	111	1,30		0,01	0,005		+	—	+	o	+	+	§		ü	1
2	18.	65							+	—							T. 20°	2
3	10. 5.	87	111	1,40		0,01	0,011	3,38	+	—	+	—	+	—	+	j	ü	3
4	21.	98	110						+	—							T. 12°	4
5	29.	106	113	1,40		0,01	0,012	3,37	+	—	+	—	+	+	+		ü Kurzstäbchen plump	5
6	7. 6.	115	111	2,15		0,04	0,049	3,17	+	—	§	—	+	o	o		ü desgl.	6
7	18.	126	111	3,50		0,04	0,118	3,00	+	—	§	—	+	o	o		ü desgl.	7
8	28.	136	111		1,30	0,54	0,604	2,50	+	+	§	—	o	o	o		ü	8
369	4. 7.	142	111		2,85	1,26	1,397	1,72	+	+	§	+	—	—	—		ü desgl.	369
370	5. 7.	143	110	1,20		0,00	0,000		—								Kontrollkölbchen. Gesamtacidität entsprechend 0,061 g Essigsäure	370


B. Pasteurian.
B. aceti H.
Die römischen Ziffern entsprechen der Ordnungs № des der betr. Curve zugehörigen Versuches.
1 mm = 24 Std.
1 mm = 0.05 gr. Essig-S.
0
VIII 4-4.5°
II 7-9°
IX 4-4.5°
III
V

macht werden, daß der Ton dieser Färbung je nach dem Zustande der Zellen verschieden ausfällt: orangegelb läßt auf hohe — blaßgelb auf verminderte Lebenskraft zurückschließen.

Die auf Zusatz von Jodlösung eintretende Bläuung der Häute von B. Pasteur. war, wie man weiß, das erstbekannte Unterscheidungsmerkmal zwischen dieser und der zuvor genannten Art. Die Reaktion kann jedoch nicht immer hervorgerufen werden: ältere Häute lassen sie nicht selten vermissen. Auf p. 295 des dänischen Originals seiner letzterschienenen Arbeit berichtet Hansen, daß er öfters Häute von B. Past. gefunden habe, welche mit Jod die Blaufärbung nicht mehr zeigten und doch noch entwickelungsfähig waren. Er läßt es unentschieden, ob das Eintreten der Bläuung als ein sicheres Kennzeichen für die Entwickelungsfähigkeit der Zellen von B. Past. anzusehen sei oder nicht. Ich glaube nun, in dieser Hinsicht einen kleinen Beitrag zur Aufklärung geben zu können.

Der Zeitpunkt, an dem die Haut mit Jod Gelbfärbung annimmt, ist nicht unmittelbar der nächste nach jenem, zu dem das letzte mal Bläung eingetreten war, sondern es liegt zwischen beiden ein Uebergangszustand, dadurch gekennzeichnet, daß auf Jodzusatz weder ein blauer noch ein gelber, sondern ein schiefergrauer oder gesprengelt-marmorierter Farbenton zum Vorschein kommt. Das Mikroskop löst diese Mischfärbung in ihre Komponenten auf: gelb gefärbte Hautteile umschließen hie und da Nester blauer Ketten von Kurzstäbchen. Diese sind es wahrscheinlich, welchen die von Hansen bemerkte Entwickelungsfähigkeit solcher Häute zu danken ist, an welchen die Bläuung ausbleibt. Die Zahl dieser Einschlüsse nimmt mit wachsendem Alter der Häute ab. Ein nächstes Studium wird sein Augenmerk auf diese Erscheinung richten müssen. —

Das trockene Zahlenmaterial der Tabellen wird der Anschauung leichter zugänglich werden durch die angefügte Tafel, in welcher jene Daten bildlich wiedergegeben sind, welche sich auf den Verlauf der Säuerung beziehen. Die Abscissen der eingezeichneten Kurven entsprechen den Zeiten, die Ordinaten den Säuremengen, welche am Ende jener gebildet waren. Durch diese vergleichende Darstellung erst wird der Einfluß der Temperatur ins volle Licht gerückt. Doch es läßt sich aus den Linienzügen noch eine andere Thatsache herauslesen. Worin dieselben von einander so auffällig sich unterscheiden, das ist der Anfang ihres Verlaufes, der um so flacher wird, je weiter die Temperatur vom Optimum entfernt liegt. Ist aber einmal ein bestimmter, geringer Säuregehalt in der Nährlösung zustande gebracht, dann steigt in allen Fällen die Kurve der Säuerung rasch zum Gipfelpunkt empor. Es kommt somit nicht nur der Temperatur, sondern auch dem Säuregehalte der Nährlösung ein Einfluß auf den Verlauf der Säuerung zu. —

In einer folgenden Abhandlung soll das Säuerungsvermögen von B. Past. bei niedrigen Temperaturen betrachtet und zu dem Zwecke über eine Anzahl von Versuchen berichtet werden, die, unter anderen als den bisher vorausgesetzten Bedingungen angestellt, zu

Ergebnissen geführt haben, die auch in allgemein-physiologischer Hinsicht einiges Interesse verdienen können.

Hohenheim, im Januar 1895.

Litteratur.

1) Hansen, E. Ch., Mycoderma aceti et Myc. Pasteurianum. (Compte-rendu des travaux du laboratoire de Carlsberg. T. I. p. 96.)
2) Peters, W. L., Die Organismen des Sauerteigs und deren Bedeutung für die Brotgärung. (Botan. Ztg. 1889. p. 405.)
3) Zeidler, A., Beiträge zur Kenntnis einiger in Würze und Bier vorkommender Bakterien. (Wochenschr. f. Brauerei. 1890. p. 1213 u. 1237.)
4) Wermischeff, Recherches sur les microbes acétifiants. (Ann. Inst. Past. 1893. p. 213.)
5) Lafar, Fr., Ueber einen Sproßpilz, welcher kräftig Essigsäure bildet. (Centralbl. f. Bakteriologie. Bd. XIII. 1893. p. 687.)
6) Hansen, E. Ch., Recherches sur les bactéries acétifiantes. (Compte-rendu des travaux du laboratoire de Carlsberg. T. III. p. 183—216.)

Aspergillus Oryzae, der Pilz der japanischen Saké-Brauerei.

Von

Dr. C. Wehmer,

Privatdozenten an der Technischen Hochschule zu Hannover.

Mit 1 Tafel.

Unter den wenigen Mycelpilzen von technischer Bedeutung nimmt der vor ungefähr 20 Jahren in deutschen Zeitschriften zuerst erwähnte Aspergillus Oryzae einen hervorragenden Rang ein. Als wirksamer Bestandteil der Kojikörner bildet er in Japan bekanntlich das wichtige Hilfsmittel einer besonderen, auf der Reisverarbeitung basierenden Industrie, bei welcher er die gleiche Rolle spielt, wie sie bei uns im Brauwesen durch das Gerstenmalz ausgeübt wird. Damit wird seine Bedeutung für das japanische Gärungsgewerbe hinreichend gekennzeichnet, andererseits freilich auch nahegelegt, daß die ihm gelegentlich zu teil werdende Bezeichnung als „japanische Hefe“ insofern nicht ganz zutreffend ist, als er nicht etwa ein Alkohol-, sondern ein Diastase-Bildner ist, er also auch nicht den eigentlichen Gärungsprozeß hervorruft, sondern solchen durch Verzuckerung der Stärke des Reiskornes nur vorbereitet. Wenigstens erscheinen abweichende Angaben bis zur Zeit noch nicht erwiesen. Als Erzeuger einer sehr wirksamen Diastase rangiert er somit — wenn wir von einigen anderen, weniger kräftig verzuckernden Species absehen — neben dem gleichfalls seit lange industriell verwerteten Amylomyces Rouxii oder wohl besser Mucor amylomyces Rouxii (Calm.) Eijkm., jenem erst in den letzten Jahren bekannt gewordenen [1]) wesentlichen Bestandteile der sogen. „Chinesi-

1) Eijkman, „Mikrobiologisches über die Arrakfabrikation in Batavia“. (Dieses Centralbl. Bd. XVI. 1894. No. 3. p. 101.) Calmette hatte den Pilz vorher als Amy-

schen Hefe", und es ist nicht ohne einiges Interesse, zu sehen, wie von ostasiatischen Völkern seit Jahrhunderten ganz bestimmte Pilze ohne irgendwelche nähere Kenntnis derselben und ihrer Wirkung dauernd kultiviert und gewerblich in umfangreichem Maße ausgenützt werden.

Ueber die Saké-(Reiswein-)Brauerei [1]) besitzen wir bereits sehr ausführliche Angaben, so daß man sich unschwer ein genaueres Bild derselben machen kann. An eine kürzere, in der Litteratur gewöhnlich übersehene Beschreibung Hoffmann's [2]) schließt sich die ausführliche, von Korschelt [3]) gegebene Schilderung, welche auf Grund des Eingehens in zahlreiche bemerkenswerte Einzelheiten ein weiteres Interesse beanspruchen darf. Einige Jahre später lieferte auch Atkinson [4]) gleichfalls neben eigenen Untersuchungen eine genauere Beschreibung dieser japanischen Industrie, über welche hier jedoch — als außerhalb des Rahmens unserer Arbeit liegend — nur kurz bemerkt werden mag, daß sie im wesentlichen auf einer Verzuckerung des zuvor gedämpften Reises mittels unseres Aspergillus und sich anschließender Vergärung der zuckerhaltigen Flüssigkeiten durch anscheinend spontan sich einfindende Hefearten beruht.

Kürzere Mitteilungen über den Prozeß finden wir dann auch gelegentlich in botanischen oder chemischen Zeitschriften, so von F. Cohn [5]), Büsgen [6]), Ikuta [7]); zu einem guten Teile beruhen sie auf den Angaben der bereits genannten Autoren, während sie andererseits — teilweise wenigstens und zwar bezüglich der physiologischen und morphologischen Eigenschaften des genannten Pilzes — auch einige neue Daten bringen. Gegenstand einer eingehenderen Untersuchung war dann späterhin noch die fermentierende Thätigkeit desselben von seiten O. Kellner's [8]) und seiner Mitarbeiter Mori und Nagaoka.

Ueber den Anteil des in Rede stehenden Aspergillus bei der

---

lomyces Rouxii bezeichnet. („La levure chinoise" in Ann. de l'Institut Pasteur. T. VI.) — Durch die soeben veröffentlichte Arbeit von Went und Prinsen Geerligs erfährt übrigens unsere Kenntnis dieser reisverzuckernden Mucorineen noch eine wesentliche Erweiterung („Beobachtungen über die Hefearten und zuckerbildenden Pilze der Arakfabrikation" in Verhandeling d. koninkl. Akademie v. Wetensch. te Amsterdam. II. Ser. 2. No. 2. Mit 4 Taf. Amsterd. 1895.) — Nachträgl. Anmerk.

1) Die Popularität des Saké erhellt zur Genüge aus einer kürzlich durch die Tageszeitungen gegangenen Notiz, der zufolge der Mikado den japanischen Kriegern auf Korea „Saki und Cigarretten" übersenden ließ. — Uebrigens spielt der Pilz auch bei Darstellung der Sojasauce eine Rolle (nach F. Cohn, s. unten).

2) Mitteilungen d. Deutsch. Gesellsch. f. Natur- u. Völkerkunde Ostasiens. Heft 6.

3) „Ueber Saké, das alkoholische Getränk der Japaner" in Mitteilung. d. Deutsch. Ges. f. Natur- u. Völkerkunde Ostasiens. Heft 16. 1876. p. 240 u. f. (und gleichlautend in Dingler's Polytechn. Journal. Bd. CCXXX. 1878. p. 330 u. f.).

4) „The chemistry of Saké-brewing in Japan". Tokio 1881 und in „Memoirs of science department, Tokio Daigaku". 1887. No. 6. p. 1 u. f.

5) „Ueber Schimmelpilze als Gärungserreger". (Jahresber. d. Schlesisch. Gesellsch. f. Vaterl. Kultur. Bd. LXI. 1883. p. 226—229. Breslau 1884.)

6) „Aspergillus Oryzae". (Berichte d. Deutsch. Botan. Gesellsch. 1885. General-vers.-Heft. p. 66—71.)

7) Chemiker-Zeitung. 1890. No. 27.

8) „Beiträge zur Kenntnis d. invertierenden Fermente". (Zeitschrift f. physiolog. Chemie. Bd. XIV. 1889. Heft 3.

Verzuckerung konnte nach den verschiedenen Untersuchungen ein Zweifel nicht mehr bestehen; demgegenüber waren aber die Angaben über den botanischen Charakter desselben wenig befriedigend und in nicht wenigen Punkten unvollständig. Obschon man sich immerhin ein zutreffendes Bild von den allgemeineren Bauverhältnissen entwerfen konnte, blieb die Frage nach den für diese Species charakteristischen morphologischen Merkmalen bis in die neueste Zeit offen, so daß bei dem gleichzeitigen gänzlichen Mangel von Abbildungen eine Abgrenzung bez. Unterscheidung von ähnlichen Formen nur dem zufällig mit Originalmaterial versehenen möglich war.

Schon dieser Umstand lädt zu einem genaueren Studium des interessanten Pilzes ein. Andererseits erscheint es aber selbstverständlich, daß praktisch bedeutsamen Organismen irgend welcher Art auch von der rein wissenschaftlichen Seite her nach Möglichkeit nahegetreten wird, selbst wenn dabei irgend bestimmte Ziele nicht in Betracht kommen. Ob für unseren Fall die morphologische Bearbeitung desselben überhaupt einen praktischen Hintergrund hat, ist unwesentlich; es genügte zur Begründung — wenn es einer solchen bedürfte — bereits die unserem Aspergillus neuerdings auch in weiteren Kreisen geschenkte Teilnahme. Dabei ist freilich nicht zu übersehen, daß man den Pilz thatsächlich in den letzten Jahren gleichfalls in anderen Ländern [1]) technisch zu verwerten bestrebt war, so daß wir da den ziemlich seltenen Fall des Versuches der Einführung eines fremden Fermentorganismus in die im ganzen doch hochentwickelte Gärungsindustrie der eigentlichen Kulturstaaten vor uns haben. Inwieweit die ersten derartigen Versuche erfolgreich verlaufen sind, bleibe dahingestellt, jedenfalls gestatten sie noch kein abschließendes Urteil; immerhin bemerkenswert erscheint es aber, daß nach der auf Versuche sich stützenden Meinung Delbrück's [2]) dieser Pilz bezüglich seiner Wirkung mit dem Malze konkurrenzfähig ist, also die Möglichkeit seiner umfangreicheren Verwertung auch bei uns gegeben wäre.

Zwecks Erlangung von Originalmaterial des Koji wandte ich mich vor ca. 2 Jahren an Herrn Hofrat O. Kellner, welcher damals noch die Professur an der Universität zu Tokio bekleidete, bez. bereits mit seiner Uebersiedelung nach Möckern beschäftigt war; das von demselben mir auf meine Bitte freundlichst zugestellte Material fand dann Verwendung zu umfangreicheren, während des verflossenen Zeitraumes angestellten und auch jetzt noch fortgesetzten Kulturen des genannten Aspergillus, welcher, beiläufig bemerkt, der so gut wie ausschließliche pilzliche Bewohner jener Kojikörner war, so daß die Erzielung von Reinkulturen sich außerordentlich leicht vollzog [3]).

---

1) So in Nordamerika, wo eine größere Brauerei nach japanischem Muster mit dem Pilze arbeitete (Peoria, Illinois, U. St.).

2) „Läßt sich die Malzverzuckerung durch die japanische Pilzverzuckerung ersetzen?" Vortrag, gehalten auf der Generalversammlung des Vereins der Spiritusfabrikanten. (Zeitschrift für Spiritusindustrie. Ergänzungsheft. Jahrg. 1894. p. 24.) Delbrück spricht sich sogar für das Wünschenswerte entsprechender Versuche im Großen aus.

3) Gelegentlich anhaftende Keime von Mucor (stolonifer), Penicillium und einigen Bakterienarten sind kaum etwas Auffallendes. Besonders P. glaucum erschien reichlich auf den gegossenen Gelatineplatten, und infiziert gewöhnlich auch etwaige unmittelbar aus dem Kojimaterial abgeleitete Kulturen.

Für die Untersuchung selbst wurde sowohl das so gezogene, wie auch das Originalmaterial verwandt, — ein Punkt, dessen ausdrückliche Berücksichtigung nach den weiterhin gesammelten Erfahrungen sich als sehr gerechtfertigt erwies.

Bevor ich auf das Nähere eingehe, ist kurz dessen zu gedenken, was man zur Zeit über unseren Pilz in botanischer Hinsicht weiß, und es sei hier zweckmäßig ein gedrängter geschichtlicher Umriß vorausgeschickt.

Geschichtliches.

Wer sich bis zum Jahre 1893 in den größeren systematischen Werken denselben Pilz informieren wollte, war im ganzen schlecht beraten, denn er fand da — entsprechend dem Stande unserer Kenntnisse — so gut wie gar nichts und das Wenige war überdies noch falsch. Zunächst hatte der Pilz das Mißgeschick, bei seinem Bekanntwerden in Europa von vornherein unter einem falschen Namen vorgestellt und auf Grund eines sogleich noch zu berührenden Mißverständnisses als Eurotium Oryzae eingeführt zu werden.

Die ganze Diagnose der Rabenhorst'schen Kryptogamenflora[1]) lautete: „Perithecien gelb, dem flockigen, weißen, septierten Mycel aufsitzend, zahlreiche Schläuche enthaltend.“ Mit dieser Beschreibung, die ebensogut auf so und so viele andere Arten und natürlich auch auf Eurotium Aspergillus glaucus bezogen werden kann, war wenig zu machen und sie konnte ohne Nachteil ebensogut ganz fehlen. Uebrigens trug Winter diesem Mangel wenigstens insofern Rechnung, als er die Art unter die „unvollständig bekannten“ setzte. Auch in Saccardo's Sylloge[2]) — und die Diagnose in der Rabenhorst'schen Kryptogamenflora ist leider nur eine bloße Uebersetzung dieser bereits c. 5 Jahre älteren des Sylloge — finden wir nicht mehr. Der verdienstvolle Bearbeiter desselben führte den Pilz unter Zugrundelegung der von seinem ersten Untersucher (Ahlburg) gegebenen Beschreibung zum erstenmal im Systeme auf, wobei jedoch bezüglich des Hauptpunktes ein noch zu berührendes Mißverständnis unterlief; aber auch Saccardo war nach seiner Angabe der Pilz selbst nicht bekannt. Derselbe gab ihm nur folgende kurze Diagnose: „Peritheciis conspicue flavis mycelio floccoso albo, septato insidentibus; ascis copiosis; sporidiis non concatenatis (?).“

Abgesehen davon, daß die Beschreibungen in unseren besten mykologischen Werken also nicht ausreichten, um sich ein einigermaßen zutreffendes Bild zu machen, waren sie überdies insofern unrichtig, als sie ein systematisch wichtiges Merkmal anführten, welches thatsächlich nicht vorhanden war — nämlich die Peri-

1) 2. Aufl. 1887. Bd. I. Abt. 2. p. 61. In der Diagnose heißt es (als Druckfehler) fleckigem statt flockigem Mycel, wie bei Saccardo („floccosi“) richtig steht.

2) Vol. I. 1883. p. 28. Saccardo versieht die Angabe Ahlburg's bezüglich der Sporen-(= Conidien-)Anordnung zutreffend mit einem (?); bei Winter fehlt sie ganz. Nach beiden soll der Pilz auf in Gärung übergegangenem Reis vorkommen, was besser durch „schimmelnden“ Reis zu ersetzen wäre. In Deutschland ist er bisher jedenfalls nur eingeführt, wenn nunmehr wohl auch als zur Flora gehörig zu betrachten; die eigentliche Heimat führt Saccardo freilich nicht auf, doch ist das alles wenig wesentlich und sei hier nur beiläufig bemerkt.

thecien. Der zweite Punkt ist, wie ich sogleich zeige, Folge eines wohl verständlichen Irrtumes, während der erstere auf die unzureichende Charakterisierung von seiten seines Autors zurückzuführen ist. Die ausdrückliche Feststellung dieser nicht ohne weiteres klarliegenden und bereits irrige Deutungen veranlassenden Momente scheint mir aber nicht ganz ohne Interesse, so daß ich in Kürze darauf eingehe.

Name und Beschreibung des Pilzes rühren also von Ahlburg[1]) her; derselbe nannte ihn Eurotium Oryzae und hatte sichtlich Schwierigkeiten bei seinem Versuche der Einreihung in das System. Das ist in Hinblick auf die näheren Umstände — die Untersuchung geschah auf Veranlassung Korschelt's im Jahre 1876 und stieß zumal für den mit derartigen Formen weniger Bekannten auf manche Weitläufigkeiten — wohl verständlich. Warum nun Ahlburg aber gerade auf Eurotium Oryzae kam, ist nicht recht zu sehen, denn dafür lag eigentlich kein Grund vor, und eben dies gab dann auch Veranlassung, daß spätere Systematiker von „Perithecien" sprachen, obschon Ahlburg solche garnicht gesehen hatte, und auch nirgend von ihnen spricht. Den Entscheid über die systematische Stellung traf der Autor allein auf Grund anderweitiger, wenig motivierter Merkmale, als welche er „die nicht kettenförmig aneinander gereihten Sporen" und das „nicht knieförmig gebogene Mycel" (worunter er offenbar den Conidienträger versteht) ansieht; trotzdem hebt er aber die Aehnlichkeit mit Aspergillus flavus[2]), und zwar mit großem Rechte, hervor. Der Fehler der Ahlburgschen Beobachtung liegt offenbar in der ungenügenden Berücksichtigung des Conidienträgerbaues, andernfalls konnte der angestellte Vergleich mit Botrytis, Penicillium und Mucor überhaupt nicht in Betracht kommen. Wenn er nichtsdestoweniger das „Sporangium" (womit zweifelsohne der Conidienträgerkopf und nicht ein doch sicherlich anders zu beschreibendes Perithecium gemeint ist) als von entschieden gelblicher Färbung und mit nach allen Seiten auseinandergehenden „Sporenschläuchen" (es sind das selbstverständlich die Sterigmen und nicht etwa Asci) im ganzen richtig, wennschon unklar, beschreibt, so ist er sich (1878) über den wirklichen systematischen Wert dieses Organs eben nicht hinreichend klar geworden, denn andernfalls hätte er anderweitige, ziemlich belanglose Merkmale des vegetativen Mycels nicht als beachtenswerte

1) Beschreibung und Untersuchung Ahlburg's wurden von Korschelt in der bereits genannten, die Saké-Brauerei betreffenden Abhandlung publiziert; anderweitige Angaben des Ersteren existieren nicht.

2) Die Aehnlichkeit der beiden Arten ist so groß, daß sie ohne genauere Untersuchung miteinander verwechselt werden können; ausgeschlossen ist auch noch nicht, daß die bestehenden geringfügigen Unterschiede wenigstens des Brefeld'schen A. flavus (welcher mir durch die Güte der Berliner Bot. Museums-Verwaltung in den „Fungi europaei" — No. 1265 — zum Vergleiche zur Verfügung stand) mehr zufällige sind, denn eigentlich bleibt für diesen nur der regelmäßig und stärker warzige Conidienträger als eigentümlich. Wenigstens gilt das für das Material der genannten Exsiccaten-No. Da A. flavus gelegentlich pathogen auftreten kann, wäre es nicht ohne Interesse, auch den Ahlburg'schen A. Oryzae in dieser Beziehung zu untersuchen (Wachstumsoptimum oberhalb 30° C!), und ein bezüglicher Hinweis Märcker's (Zeitschrift f. Spiritus-Industrie. Ergänzungsheft 1894) verdiente vielleicht doch einige Aufmerksamkeit.

Momente in den Vordergrund gestellt. Natürlich kann aber ein derartig gebautes, von Ahlburg jedoch nicht genauer untersuchtes „Sporangium“ (d. h. also Sporenköpfchen) ebenso gut einem Aspergillus wie einem Eurotium angehören und es ist nicht ganz zu verstehen, inwieweit hier ein Unterschied betreffs der Sporen- (d. h. Conidien-) Anordnung (also kettenförmig oder nicht in Ketten) bestehen soll[1]). Ueberdies bilden die Conidien dieser Species ebenso elegante Ketten[2]), wie irgend eine andere Aspergillus-Art, und wenn Ahlburg das Gegenteil angiebt, so ist das nur insofern zutreffend, als es sich auf das in künstlichen Präparaten zur Anschauung kommende Bild bezieht. Thatsächlich begegnet man hier nur ausnahmsweise Kettenverbänden, da deren Zerfall mit außerordentlicher Leichtigkeit erfolgt. Von Früchten oder Perithecien ist in der Beschreibung also nirgend die Rede, vielmehr sagt unser Autor, daß „nur noch das Genus Eurotium Link übrig bleibt, dem er zugesellt werden muß, natürlich, wie wohl zu bemerken ist, nach den jetzt vorliegenden Thatsachen; die sexuelle Fortpflanzung ist noch nicht beobachtet und könnte diese vielleicht neue Aufschlüsse bringen“[3]). Hier zeigt es sich wohl klar, daß unser Autor durchaus mißverstanden ist, wenn man ihm die Aufführung von „Perithecien“ zuschiebt; unmotiviert war seinerseits aber unter solchen Verhältnissen natürlich die Einreihung in die Gattung Eurotium, welche eben dazu führte, daß man in den von ihm beschriebenen „Sporangien“ und „Schläuchen“ Perithecien und Asci vermutete. Im übrigen können wir freilich nicht umhin, die überlieferte Schilderung als ziemlich unklar zu bezeichnen; es hätte eine einzige Abbildung des Conidienträgers genügt, späteren Autoren den wirklichen Sachverhalt ohne weiteres klar zu machen.

Erst im Jahre 1883 wurde dem Pilze wieder von botanischer Seite nahegetreten und ihm nunmehr auch sein rechtmäßiger Name gegeben, indem F. Cohn[4]) von Aspergillus Oryzae spricht. Derselbe bespricht die Verwendung bei der Reisweinbereitung und Darstellung der japanischen Sojasauce, giebt aber Besonderes über die morphologischen Merkmale nicht an. Winter[5]) sind die Angaben Cohn's wie auch des sogleich noch zu nennenden weiteren Untersuchers bei Bearbeitung der Aspergillen in der Rabenhorstschen Kryptogamenflora (1886—1887) leider nicht bekannt geworden, andernfalls hätte seine oben angezogene Diagnose schon wesentlich modifiziert werden können, denn auch Cohn findet keine Perithecien, sondern Aspergillusköpfe.

Einige genauere Angaben über den Pilz gab im Jahre 1885

1) Wennschon man das leichte Zerfallen der Sporenketten zwar bei Eurotium (d. h. also bei Aspergillus glaucus, der Conidienträgerform des Eurotium) findet, so spielt es doch für die Gattungsdiagnose gar keine Rolle (wie Ahlburg annimmt); die Perithecien sind von diesem überhaupt nicht näher berücksichtigt worden, werden überhaupt nicht einmal erwähnt.

2) Zur Konstatierung dieser Thatsache muß man die Conidienträger in situ, also ohne vorhergehende Präparation untersuchen, wie das auf Gelatineplatten mit schwächeren Systemen leicht möglich ist. Andernfalls findet man fast nur isolierte Conidien.

3) l. c. p. 253.

4) l c. p. 227.

5) Kryptogamenflora, 2. Aufl., I. 2. p. 61.

dann Büsgen[1]), freilich mehr beiläufig, bei Gelegenheit einer mit anderen Fragen sich beschäftigenden Mitteilung, indem er Aussehen und Größenverhältnisse von Mycelfäden, Conidienträgern, Sterigmen und Conidien kurz bespricht und auf die Aehnlichkeit mit Aspergillus flavescens Lichth.[2]) hinweist. Erst seitdem sind wir eigentlich in der Lage, uns ein einigermaßen zutreffendes Bild zu machen, wenngleich im übrigen noch mancherlei Ergänzungen wünschenswert bleiben, und insbesondere auch eine genauere Abgrenzung bez. ein Vergleich mit den übrigen, zum Teil ähnlich gebauten und gefärbten Aspergillus-Arten noch fehlt. Jedenfalls ergab sich aber aus der Darstellung Büsgen's, daß wir es mit einer stattlichen, derben, großsporigen Art, deren Sporenköpfchen einfache (unverzweigte) Sterigmen („Basidien") besitzen und denen von A. repens gleichen, zu thun haben. Perithecien wurden von diesem gleichfalls nicht beobachtet.

Fernere Angaben über die Art wurden bis zum Jahre 1893 nicht gemacht, sodaß dies der Stand unserer Kenntnis zu der Zeit war, als ich mich zu einer genaueren Bearbeitung derselben unter Vergleich mit den übrigen Species der Gattung entschloß. Noch während ich hiermit beschäftigt, erschien dann in der 2. Lieferung der zweiten Hälfte von Band III der Cohn'schen Kryptogamenflora Schlesiens (1893) die Schröter'sche Bearbeitung der Gattung mit einer neuen Diagnose unserer Art, womit dann endlich dem noch immer bestehenden Mangel einer solchen abgeholfen war.

Die dem Anschein nach damit erledigte Frage war das aber noch keineswegs, vielmehr ergeben sich nunmehr neue Ausstellungen und zweifelhafte Punkte. Zunächst differieren einige der Angaben der zwei letztgenannten Forscher nicht unwesentlich, weiterhin aber reicht das Aufgenannte zu einer sicheren Erkennung thatsächlich nicht aus, und steht überdies in einigen Punkten mit den inzwischen von mir gesammelten Erfahrungen in Widerspruch. Das war immerhin Grund genug, die Sache nicht beiseite zu legen, sondern eine Klarstellung anzustreben.

Zur näheren Begründung sei hier u. a. aufgeführt, daß allein bezüglich der Conidien von Büsgen die Größe zu 5—7 μ, von Schröter zu 3—4 μ, ihre Wand von ersterem als meist fein warzig, vom letzteren dagegen als glatt, die Farbe ebenso als hellgelb, von dem anderen aber als grüngelb angegeben wird. Weniger Gewicht ist wohl auf die Differenz bezüglich der Conidienträgergröße zu legen (nach der einen Angabe etwa 0,5 mm, nach der anderen bis über 1 mm lang), obschon auch sie nicht ganz zu übersehen ist. Aber insbesondere die Conidiengröße ist bei Aspergillusarten ein sehr wesentliches Merkmal, das im Durchschnitt derartigen Schwankungen, wie sie hier vorzuliegen scheinen, nicht unterworfen ist. Meine eigenen Befunde schließen sich in mehreren Punkten denen Büsgen's, der dem Anschein nach vorwiegend Original- und nicht eige-

1) l. c. p. 69.

2) Einer Species von — beiläufig bemerkt — zweifelhaftem Wert und wohl von A. flavus nicht verschieden. Als Autor wäre übrigens wohl nicht Sicktheim, sondern Werden zu nennen.

nes Kulturmaterial untersuchte, an, so daß zur Erklärung der abweichenden Angaben Schröter's, in dessen Diagnose notwendig die Annahme gemacht werden muß, daß demselben weniger normales, selbst gezogenes, bez. von anderen kultiviertes Untersuchungsmaterial vorgelegen hat. Auf die Differenzen im einzelnen werde ich später bei der Beschreibung kurz hinweisen; beiläufig sei hier nur noch eine Bemerkung anderer Art gemacht, welche die Autorschaft des Namens betrifft.

Saccardo und Winter bezeichnen den Pilz natürlich als Eurotium Oryzae „Ahlburg"; nach der notwendig gewordenen Umtaufe kann also nicht mehr von Aspergillus Oryzae „Ahlburg" — wie man gelegentlich findet — die Rede sein, vielmehr wäre nach dem Autor derselben Aspergillus Oryzae (Ahlburg) F. Cohn zu setzen [1]).

Eine nähere Begründung bez. Beschreibung hat nun aber erst Büsgen geliefert, so daß der Fall vielleicht zweifelhaft liegt, und mir ein gänzliches Absehen von dieser Streitfrage zweckmäßig erscheint. Ich bezeichne ihn — was ja auch ziemlich unwesentlich — daher einfach als A. Oryzae (Ahlburg).

In der Hauptsache beziehen sich die mitzuteilenden Beobachtungen dem Plan der Untersuchung gemäß auf morphologische Verhältnisse; zweckmäßig schicke ich ihnen eine kurze Darlegung über die Stellung dieser Species zu den übrigen, teilweise von mir selbst in Kultur gehaltenen Arten ähnlichen Aussehens voraus.

Verhältnis zu den übrigen Species der Gattung.

Unter der Gattungsbezeichnung Aspergillus („Kolbenschimmel") faßt man bekanntlich eine Reihe von Hyphomycetenformen zusammen, die durch den Besitz von im großen und ganzen ziemlich übereinstimmend gebauten Conidienträgern ausgezeichnet ist; durchweg sind diese Organe durch Größenmaße (Durchmesser, Wanddicke) und Struktur von den vegetativen Hyphen mehr oder weniger verschieden und tragen auf ihrer keuligen oder kugligen, meist sehr beträchtlichen Endanschwellung Conidien-abschnürende einfache oder verzweigte Sterigmen [2]) in durchweg ansehnlicher Menge. Bekannt ist auch, daß der Nachweis der Zugehörigkeit zu bereits länger bekannten Schlauchfrüchten (Perithecien) bei einigen derartigen Formen die Einreihung in das Genus Eurotium zur Folge hatte (A. glaucus und repens) [3]), sowie andererseits die durch den Besitz verzweigter Sterigmen dem besonderen Genus (subgenus oder sectio) Sterigmatocystis [4]) zugewiesen wurden. Von diesen leicht zu einigen Unklarheiten [5]) führenden Verhältnissen sehen wir

---

1) Das findet man z. B. auch bei Zopf („Pilze". p. 178) und Schröter (l. c. p. 215.)

2) Bez. Basidien und Sterigmen der abweichenden Terminologie.

3) A. repens (Eurotium Asperg. repens de By.) ist aber nach eigener Angabe de Bary's keine distinkte Species. (Botan. Zeitg. 1854. p. 425 u. f.)

4) Cf. Cramer, „Ueber eine neue Fadenpilzgattung Sterigmatocystis". (Vierteljahrsschrift d. naturf. Gesellsch. zu Zürich. 1859. p. 325 u. f.).

5) Bei Betonung des Fehlens oder Vorhandenseins bez. des spezielleren Charakters der Früchte hätten wir überhaupt vier Gruppen bez. Genera zu machen, denn

hier jedoch ab und umgrenzen die Gattung — unbeschadet des Umstandes, ob besondere fruchtartige Organe existieren oder nicht, ob die Conidien-abschnürenden Fäden einfach oder zusammengesetzte Organe sind — allein nach der Form des Conidienträgers in dem alten Sinne.

Unser Aspergillus Oryzae ist dann im weitesten Sinne in Vergleich zu stellen mit allen ähnlich gefärbten Species, die im übrigen auch das Gros dieses „Formgenus" ausmachen. Es scheiden also aus die schwarzbraunen, ockerfarbenen, weißen sowie rötlichen Arten, und es bleiben die gelben, grüngelben, grünen und gelbbräunlichen Species, denn zwischen diesen Farbentönen bewegt sich auch die seinen Conidienrasen zukommende Farbe. Dieselbe ist also, wie ausdrücklich bemerkt sein mag, nicht ausschließlich rein gelb, wie z. B. Schröter angiebt („chromgelb"), denn bereits Cohn wie Büsgen sprachen von grünlich-gelben Conidien und dies ist u. a. auch die Farbe meiner japanischen Kojikörner. Darauf ist noch unten näher zurückzukommen.

Eine für jeden Fall zuverlässige Unterscheidung von den ähnlich gefärbten giebt aber nicht die mehrfach nach den Umständen variable Farbennüance, sondern vorzugsweise Gestalt, Aufbau und Größenverhältnisse des conidienbildenden Organes; es sei also betont, daß gerade der Conidienträger mit Einschluß der Conidien die hier in Betracht kommenden diagnostischen Merkmale liefert, eine weitergehende Einförmigkeit in dieser Beziehung zwischen den verschiedenen Species bei genauerem Vergleich also nicht existiert. Es scheiden dann bei näherem Vergleiche einige sonst ähnliche Sterigmatocysten, die kleinsporigen[1]) und schwachwüchsigen Aspergilli, sowie die mit vorwiegend rein kugliger oder ausgesprochen ovaler Blase und stets allseitig dicht gedrängt stehenden kurzen Sterigmen aus, und es bleibt endlich als ähnliche Form — etwa neben den aber immerhin noch leicht unterscheidbaren A. glaucus und repens — eigentlich nur noch der A. flavus Bref. Auf das Verhältnis zu dieser thatsächlich sehr ähnlichen Species komme ich demnächst noch zurück.

Die Pilzvegetation der Kojikörner.

(Fig. 2—6 der Tafel.)

Meine Angaben beziehen sich selbstverständlich zunächst nur auf das mir vorliegende Material von im übrigen tadellosem Aussehen, doch liegen irgendwelche Bedenken gegen eine Verallgemeinerung wohl kaum vor.

In der Hauptsache besteht dasselbe aus harten grauweißen, ziemlich glatten und von farblosen dicken Hyphen locker umwachsenen Reiskörnern, die sehr reichlich mit grünlich-gelben Conidien

---

neben Perithecien finden wir bei den Aspergillusformen noch fertile und sterile Sklerotien, bez. keins von dem allem, so daſs ein Auseinanderziehen nach dem jeweiligen „Frucht"charakter zur Zeit kaum ersprießlich ist. Anders wäre es schon mit dem Betonen der Sterigmengestalt.

1) Deren Conidien 2—4 μ im Durchm. halten. Auf Näheres über diese Punkte komme ich in kurzem a. a. O. zurück.

besäet sind. Der größere Teil des ursprünglich mit den Reiskörnern in Zusammenhang stehenden Mycels (insbesondere aber auch die farbigen Conidienträgerköpfchen) hat sich abgelöst und bildet durch die anhaftenden Conidien gelbgrün gefärbte, fädige Flöckchen verschiedener Größe zwischen den derben, relativ schweren Reiskörnern. Die mikroskopische Untersuchung des Fadengewirrs ergiebt zunächst, daß mit alleiniger Ausnahme der Conidien alle Elemente farblos sind, die der Gesamtmasse zukommende Farbe also allein von diesen makroskopisch grünlichgelben, mikroskopisch gelblichen, massenhaft vorhandenen Organen veranlaßt wird. Im übrigen setzt es sich im wesentlichen aus ansehnlichen, mehr oder weniger derbwandigen vegetativen Hyphen zusammen (5—9 μ im Durchmesser), deren Verzweigung und Septenbildung nicht immer leicht auffindbar sind. An Zahl zurücktretend findet man in dem Gewirr die im allgemeinen — aber nicht immer — vor jenen durch ihre Dicke sich auszeichnenden meist recht ansehnlichen und ziemlich übereinstimmend großen Conidienträger, deren Köpfchen seltener noch ganz intakt, oft aber durch Eintrocknen, Abfallen der Sterigmen etc. nachträglich verändert sind.

Uns interessiert hier nun ausschließlich Bau und Dimensionen von Stiel, Blase und Conidien.

Als beachtenswertes Merkmal hebe ich zunächst das meist — Ausnahmen bilden kleinere Exemplare — kuglige mit Conidien reichlich besäete Köpfchen hervor, dessen gelbgrünliche Farbe — wie schon bemerkt — ausschließlich ihren Sitz in den Conidien hat, so daß also Stiel wie endständige Blase und Sterigmen farblos sind. Die Wand des starren, im Durchmesser schwankenden Stieles ist mäßig verdickt und meist von glatter Beschaffenheit, somit im Durchschnitt ohne körnige Ausscheidungen. Sein Durchmesser erweitert sich gewöhnlich von der Basis nach oben hin um ein Gewisses (bis auf das Doppelte), so daß die im übrigen kuglige, schwach derbwandige Blase nicht ganz scharf gegen ihn abgesetzt ist; im übrigen beträgt ihr Durchmesser gewöhnlich das Doppelte jenes des Stieles. Sie trägt in der Regel allseitig dicht gedrängt stehende ziemlich kurze sackförmige Sterigmen, deren Länge gewöhnlich unterhalb des halben Blasendurchmessers bleibt, und die auf ihrer stumpfen Spitze noch vereinzelt große Conidien tragen. Man findet diese sehr selten noch zu nur kurzen Ketten verbunden (wie solches auch von Ahlburg, freilich mit irriger Deutung, hervorgehoben wurde); fast durchweg liegen sie im ganzen Materiale einzeln, so daß der Zerfall offenbar sehr leicht vor sich geht. Das Köpfchen ist demnach auch ziemlich unregelmäßig von ihnen bedeckt und bietet im Präparate nicht das von andern Arten bekannte Bild des radialen Ausstrahlens von Conidien und Sterigmen. Im übrigen zeichnen sich die verschiedenen Sporenköpfchen durch eine gewisse Uebereinstimmung in Aussehen und Größe aus, so daß also stärker abweichende Bildungen seltener sind und die Kojivegetation ein einförmigeres Bild liefert als die davon abgeleiteten weiterhin zu besprechenden Kulturen auf anderweitigen Substraten.

Was schließlich die Conidien betrifft, so sind diese zunächst durch die Variabilität in der Größe ausgezeichnet, und zwar in

einem sonst seltenen Maße. Der Durchmesser schwankt so sehr, daß man zunächst einen Normalwert aufzustellen zögert, indem er bei einem Teile nur ein Drittel bis ein Halb desjenigen der größten ausmacht. Lassen wir jedoch beide Extreme beiseite, so kommen wir zu Dimensionen, die zwischen 5 und 7 μ liegen, womit die Species also zu den „großsporigen“ gehört. Im übrigen sind dieselben meist kugelrund und feinwarzig (stark gekörnelt), und zwar fand sich dies nur bei stärkerer Vergrösserung wahrnehmbare Merkmal ausnahmslos an allen Exemplaren, während das gleiche Merkmal an Conidienträgern nur vereinzelt beobachtet wird.

Das hier gezeichnete, den Conidienträgern auf den Kojikörnern entsprechende Bild bietet in drei Punkten etwas Bemerkenswertes: Der Stiel des Trägers ist fast stets glatt, nicht warzig, der Kopf im ganzen ziemlich übereinstimmend regelmäßig, dicht mit Sterigmen besetzt, die Conidien sind feinwarzig. Demgegenüber wird sich aus den unten zu besprechenden verschiedenartigen Kulturen ergeben, daß diese sämtlichen Merkmale nichts constantes, sondern etwas recht Variables sind, ihnen also ein unbedingter diagnostischer Wert nicht ohne weiteres zukommt. Wir dürfen hier schon darauf hinweisen, daß ohne Hinzuziehung der Resultate entsprechender Kulturversuche für die meisten Asperpillus-Species eine zutreffende Diagnose kaum aufgestellt werden kann — eine Thatsache, der auch mit Rücksicht auf ihre praktische Bedeutung eine weitere Beachtung zukommt.

(Schluß folgt.)

Die im Miste vorkommenden Bakterien und deren physiologische Rolle bei der Zersetzung desselben.

[Aus dem Laboratorium der bakteriologisch-agronomischen Station bei der Kaiserlich-Russischen Akklimatisationsgesellschaft für Pflanzen und Tiere zu Moskau.]

Von

S. A. Severin,
Kandidaten der Agronomie.

(Schluß.)

Der Strich auf der Kartoffel erscheint bei 37—30° C nach Verlauf von einem Tage, ist grauweiß, ziemlich dünn, derb, glänzend.

Die Milch gerinnt nach 2 Tagen bei 37—38° C.

Die Injektion von 2 ccm der Bouillonkultur in die Bauchhöhle eines Meerschweinchens ist ohne jedweden Einfluß geblieben. Nach den meisten äußeren Anzeichen erinnert der hier beschriebene Mikroorganismus an den Bacillus mycoides (Flügge).

Kultur No. 2. Aussehen der Kolonieen auf Agar-Agar. Die Kolonieen erscheinen nach einem Tage bei 37—38° C. Die in der Tiefe befindlichen Kolonieen sind braun gefärbt, rund oder kahnförmig, mit glatter Oberfläche, glatten, ausgeprägten Konturen; die Kolonieen an der Oberfläche sind rund, die der Lichtseite zugewandte

Hälfte jeder Kolonie ist schwarzbraun, die andere viel heller, mit gelblicher Färbung, infolgedessen sind auch die Konturen, welche glatt und ausgeprägt sind, an der einen Seite dunkel, an der anderen vollkommen hell. Makroskopisch erscheinen die Kolonieen rund, weiß mit gelblicher Färbung, ölig, sich leicht über das Niveau des Nährmediums erhöhend.

Auf Gelatine erscheinen die Kolonieen nach 2 Tagen bei gewöhnlicher Temperatur; die in der Tiefe befindlichen Kolonieen haben die Himbeerenform, sind braun; die oberflächlich gelegenen Kolonieen sehen ebenso aus, nur sind sie größer und dunkler. Makroskopisch: rund, weiß, glänzend wie Fayence. Sie verflüssigen die Gelatine nicht. Der Form der Kolonieen nach erinnert dieser Mikroorganismus an den Micrococcus aquatilis in hohem Grade.

Strichkultur auf Agar kommt nach Verlauf eines Tages zum Vorschein bei 37—38 ° C. — Fayenceweiß, ölig, nicht besonders üppig. Auf Mist-Agar ist der Strich dürftiger. Strich auf Gelatine nach Verlauf von 2 Tagen bei Zimmertemperatur fein, ziemlich flach, wéiß, mit Fayenceglanz, undurchsichtig.

Stichkultur in Gelatine erscheint bei gewöhnlicher Zimmertemperatur nach 2 Tagen, ist fein, durchsichtig, mit fayenceweißem, nicht sehr großem Kopfe mit gezackten Rändern. Nach Verlauf von 6 Monaten verschwindet der Stich und bleibt nur der Kopf allein zurück, welcher sich bis fast an die Glaswandung verbreitet, an Stelle der Zacken bilden sich tiefe Einschnitte; der obere Teil der Gelatine wird sehr trübe, doch tritt keine Verflüssigung ein.

Impfung in Bouillon nach 24 Stunden bei 37—38 ° C. — Die Bouillon wird trübe, am Boden bildet sich in geringer Quantität ein Niederschlag, beim Schütteln sehr leicht in Fäden aufschwimmend, welche sich leicht in der Bouillon ausbreiten. Unter dem Mikroskope kommen sehr originelle Formen zur Beobachtung. Wir müssen bemerken, daß die aus festen Substraten entnommenen Kulturen aus Mikrobakterien bestehen; doch unterscheidet sich ihre Länge von ihrer Dicke so wenig, daß man sie sehr leicht für Kokken halten kann, und konnte die Frage erst nach Anwendung starker Vergrößerungen dahin entschieden werden, daß es Mikrobakterien sind. Die Bouillonkultur bestätigt diesen Schluß, indem sich hier dieselben Mikrobakterien finden, wie auch auf den festen Substraten, außerdem aber ausgeprägte Bacillenformen, welche aus 2—3—4 Gliedern bestehen, vorkommen. Außer diesen giebt es in der Bouillonkultur noch eine ebenfalls bacilläre, aber höchst unregelmäßige Form, welche an Zahl die beiden ersten bedeutend übertrifft: Die Stäbchen sind im allgemeinen dick, plump, überaus verschiedenartig gekrümmt, nicht selten in arthrosporer Teilung begriffen, die einzelnen Glieder sind aber bald länger, bald kürzer, bald dicker, bald wieder dünner, die Enden sind abgerundet oder gerade, zuweilen regelmäßig, zuweilen wie zerrissen, sich verdünnend oder verdickend; die Färbung der Stäbchen geht ziemlich gleichmäßig vor sich, obwohl auch hier Variationen vorkommen, die Mehrzahl der Stäbchen hat an einem seiner Enden heller gefärbte Stellen in Form eines runden Fleckchens; diese hellen Flecke sind an ungefärbten Präparaten besonders gut bemerk-

bar. Ueberhaupt ist die Mannigfaltigkeit der vegetativen Formen so groß, daß sie durch irgend einen Typus nicht zu bestimmen ist, besser ist es, sie als Involutionsformen zu bezeichnen. In derselben Bouillon, welcher 4 Proz. Milchzucker hinzugefügt sind, bilden sich solche abweichende Formen nicht oder kommen jedenfalls nur ausnahmsweise vor; in sterilisierter Milch finden wir, gewöhnlich am dritten Tage, wiederum dieselben Formen, wie in der gewöhnlichen Bouillon. In Mist-Bouillon geht die Entwickelung ebenso vor sich wie in der Buoillon mit Milchzucker, d. h. die abweichenden Formen kommen nur selten vor; außerdem wachsen in der Mist-Bouillon einzelne Stäbchen zuweilen zu Fäden aus, welche aus 10—15 Gliedern bestehen. Selbständige Bewegungen besitzt der Mikroorganismus nicht. Endospore Bildung wurde nicht beobachtet; die Glieder waren 0,5—4 μ lang, 0,5—1 μ breit.

Im hängenden Tropfen bei 37—38 ° C werden abweichende Formen nicht gebildet, doch kommen außer den Mikrobakterien und einer unbedeutenden Quantität der mehr oder weniger ausgeprägten bacillären Form Ketten aus 4—6 ungleich großen Gliedern vor, welche kokkenähnlich sind; nur bei aufmerksamer Betrachtung bemerkt man, daß die Glieder etwas eckig sind, d. h. die den echten Kokken eigene Abrundung nicht haben.

Der Strich auf der Kartoffel hat denselben Charakter, wie der Agarstrich.

Die Milch gerinnt nicht.

Kultur No. 3. Aussehen der Kolonieen auf Agar-Agar: Die Kolonieen erscheinen nach 2 Tagen bei 37—38 ° C; die tief gelegenen Kulturen sind rund oder oval, braun, bald heller, bald dunkler gefärbt, letztere mit gelbem Anstrich, die Oberfläche der Kolonieen ist von einer unregelmäßigen Zeichnung bedeckt, welche den Eindruck macht, daß die Oberfläche höckerig ist, die Konturen sind außen scharf markiert, mit kleinen Ausbuchtungen; die oberflächlichen Kolonien sind rund, von gelblich-brauner Farbe, die der Lichtseite zugewandte Hälfte jeder Kolonie ist heller gefärbt, einige Kolonieen haben einen dunkler gefärbten Centralteil, an anderen sieht man einen konzentrischen Ring mit dunklerer Färbung, die Oberfläche der Kolonieen ist mit zarten, kurzen, geraden Härchen bedeckt, welche bis zur Peripherie reichen und an den Konturen zarte Flimmern bilden, was besonders prägnant an der Lichtseite hervortritt.

Aussehen der Kolonieen auf Gelatine: Die Kolonieen erscheinen nach 2 Tagen bei Zimmertemperatur; die tief gelegenen sind klein, rund, hellgelblich-braun, die Peripherie ist dunkler gefärbt, als das Centrum und erscheint daher als dunkler Ring, markierte, glatte, dunkle Konturen, die oberflächlichen Kolonieen sind ebenso gefärbt, rund, mit glatter Oberfläche und wie zerrissenen Konturen, welche an der zum Lichte gewandten Seite hell, an der entgegengesetzten dunkel sind. Makroskopisch: runde, durchsichtige, bei durchgehendem Lichte leicht bläulich gefärbte, etwas über das Niveau der Gelatine hervorragende Kolonieen. Verflüssigen die Gelatine nicht.

Der Strich auf Agar erscheint nach einem Tage bei 37—38 ° C,

ist ziemlich breit, grauweiß, mit schwachem Glanze; in Mist-Agar dünn gräulich.

Stich in Gelatine weiß, durchsichtig.

Stichkultur auf Gelatine erscheint nach 2 Tagen bei Zimmertemperatur, schmal, flach, grauweiß, mit schwachem Glanze, undurchsichtig; zuweilen bedeckt sich der Strich etwa nach 5 Tagen mit kleinen Runzeln, welche eine Zeichnung bilden.

Impfungen in Bouillon: Nach einem Tage bei 37—38° C wird die Bouillon etwas trübe, nach 2 Tagen wird die Trübung bemerkbarer, zuweilen bildet sich eine Membran, welche aber nicht die ganze Oberfläche der Flüssigkeit bedeckt. Unter dem Mikroskope sieht man plumpe, größtenteils in Form eines Komma oder Vibrio gekrümmte Stäbchen, verhältnismäßig selten bildet sich die Spiralform. Die Stäbchen haben abgerundete Enden, zeigen eine rasche, vibrierende, fortschreitende Bewegung oder drehen sich im Kreise herum. Arthrospore Teilung ist weder an lebenden noch an gefärbten Präparaten zu beobachten; die Länge der vegetativen Formen schwankt zwischen 1—10 μ, die Breite zwischen 0,4—0,6 μ. Endosporenbildung wurde nicht beobachtet. Die Kulturen aus festen Nährmedien haben die Vibrionenform gar nicht und bestehen ausschließlich aus kurzen Stäbchen.

Im hängenden Tropfen erhält man nach Verlauf eines Tages bei 37—38° C dasselbe Bild, wie in der Bouillon; besonders zahlreich treten die Vibrionen am 3. Tage auf. Bei Betrachtung gefärbter hängender Tropfen ist zu ersehen, daß die Mehrzahl der Formen sich ungleichmäßig färbt, gewöhnlieh ist die Färbung an den Enden dunkler.

In sterilisiertem Pferdeharn entwickelt sich der Mikroorganismus sehr schwach, erst am dritten Tage läßt sich eine schwache Färbung bemerken. Unter dem Mikroskope sieht man nur die bacilläre Form in sehr unbedeutender Quantität.

Auf Kartoffeln wächst der Mikroorganismus nicht.

Die Milch gerinnt nicht.

Dies sind die drei Mikroorganismen, mit denen die weiter unten beschriebenen Versuche angestellt wurden.

Ich beabsichtigte, sowohl die den ersten drei Mikrobien bei der Zersetzung des Mistes zukommende Rolle zu studieren, als auch parallele Untersuchungen über die Energie anzustellen, mit welcher die Zersetzung der organischen Mistsubstanz einerseits ohne Beiwirkung der Mikroorganismen unter Einfluß des natürlichen Faktors, der Luft allein, andererseits unter der Teilnahme der Mikroorganismen vor sich gehe. Dementsprechend ordnete ich meinen ersten Versuch in folgender Weise an: In zwei Glasgefäße von gleicher Größe wurden 200 g frischen Pferdemistes gelegt; da es aber sehr schwer ist, zwei ihrer chemischen Zusammensetzung nach ganz identische Portionen Mist auszuwählen, bereitete ich einen bis zu einem gewissen Grade künstlichen Mist, indem ich aus ganz frischem Stroh, Pferdefaeces und Harn 2 Portionen einer Mischung zusammenstellte, welche alle diese Bestandteile annähernd in derselben Proportion enthielt, wie der Mist. Die Gefäße wurden mit

Gummipfropfen fest verschlossen, in welche 3 Glasröhrchen eingefügt waren; zwei von diesen Röhrchen, welche zum Ein- und Ausführen der Luft dienen, sind rechtwinklig abgebogen, das dritte ist gerade und hat an seinem oberen Ende eine Erweiterung; alle Röhrchen werden mit Wattepfropfen verschlossen; so eingerichtet, wurden beide Gefäße während einer halben Stunde im Autoklaven unter 2 Atmosphären Druck sterilisiert. Danach wurden in eines der Gefäße mit Einhalten aller nötigen Kautelen durch das gerade Glasröhrchen 2-tägige Bouillonkulturen der Mikroorganismen 1, 2 und 3 in der Quantität von je 1 ccm, in das andere Gefäß 3 ccm sterilisierter Bouillon eingegossen; sodann werden die Wattepfropfen angebrannt und in das Innere der Glasröhrchen hineingeschoben und die erweiterten Enden der geraden Röhrchen beider Gefäße luftdicht mit Gummipfropfen abgeschlossen, um jede Kommunikation des Inneren der Gefäße mit der äußeren Luft aufzuheben. Durch jedes der beiden Gefäße wurde mittels Aspiratoren während eines Monates ein langsames Zu- und Abströmen der Luft unterhalten, die Luft passierte, ehe sie in das Gefäß eintrat, 3 Kolben, einen mit KHO angefüllten, in welchem die CO_2 der Luft absorbiert wurde, einen zweiten mit H_2SO_4 zur Absorption der Ammoniaksalze und einen dritten, welcher Wasser enthielt und dazu dienen sollte, die Mistportionen beständig feucht zu erhalten. Auf solche Art von CO_2 und NH_3 befreit, trat die Luft in die Gefäße ein, nahm hier die gasförmigen Zersetzungsprodukte auf, führte sie durch die ausführenden Röhrchen aus und gab dieselben in einer Reihe von Apparaten wieder ab. Da mir als Indikatoren für die Energie, mit welcher die Zersetzungsprozesse vor sich gingen, nur die CO_2 und das NH_3 dienten, so waren die Apparate so eingerichtet, daß die Produktion dieser Stoffe kontrolliert werden konnte; aus welchem Grunde auch die in die Gefäße eintretende Luft vorher von CO_2 und NH_3 befreit wurde. Darauf wurde die aus den Gefäßen ausströmende Luft zuerst durch drei U-förmige, mit titrierter H_2SO_4 gefüllte Röhrchen geleitet, wo die Ammoniaksalze absorbiert wurden, sodann durch starke H_2SO_4, in welcher die Luft ihren Wassergehalt zurückließ[1]), von hier gelangte die Luft in einen Geissler'schen Apparat mit KHO zur Absorbierung der CO_2, sodann durch einen gleichen, mit starker H_2SO_4 gefüllten Apparat, in welchem das aus der KHO-Lösung mitgenommene Wasser zurückgehalten wurde und endlich durch ein U-förmiges Röhrchen mit $CaCl_2$, welches dazu diente, den Zutritt von Wasserdämpfen von außen durch das Ausgangsende zu verhindern. Während der ganzen Versuchsdauer wurde in den Gefäßen eine Temperatur von 25—40° C unterhalten, zu welchem Zwecke beide Gefäße in Wasserbäder gestellt waren, welche beständig durch Gasbrenner erwärmt wurden. Die Apparate mit KHO und H_2SO_4 wurden zweimal wöchentlich gewogen. Zum Zwecke der Bestimmung des NH_3 wurde die Schwefelsäure im Verlaufe des Versuches zweimal titriert, das erste Mal 19 Tage

1) Zwischen dem Gefäßchen mit H_2SO_4 und dem KHO-Apparate wurde noch ein einfach mit hygroskopischer Watte angefülltes U-förmiges Röhrchen eingestellt, um eine größere Entfernung zwischen diesen beiden Apparaten zu erzielen, da sonst die Schwefelsäure den Wassergehalt der KHO-Lösung beeinträchtigen konnte.

nach Beginn des Versuches, das zweite Mal nach Beendigung desselben. Der Versuch wurde am 7. November 1893 begonnen und am 6. Dezember abgeschlossen. Nach Abschluß des Versuches wurden bakteriologische Kontrollanalysen gemacht, welche gezeigt haben, daß sich in dem Gefäße mit geimpftem Miste nur die Mikroorganismen 1, 2 und 3 befanden, und daß die nicht geimpfte Portion keine Mikrobien enthielt; es war also der Versuch ohne Verunreinigungen im bakteriologischen Sinne ausgeführt. Die Resultate dieses Versuches sind in folgender Tabelle enthalten:

Tab. I.

Wochen	Zuwachs der CO_2 in g — Apparat mit Kulturen	Zuwachs der CO_2 in g — Apparat ohne Kulturen
Erste	+ 1,825	+ 0,075
Zweite [1]	+ 1.696	+ 0,031
Dritte	+ 1,657	+ 0,029
Vierte	+ 3,839	+ 0,026
Summa	+ 9,017	0,161
Quantität der während der ersten 19 Tage ausgeschiedenen NH_3 (in Grammen)	+0,021	0
Während der übrigen 10 Tage (in Grammen)	+0,004	0

Das Resultat des Versuches fällt in die Augen — im Apparate mit Kulturen ist die Ausscheidung von CO_2 fast 60mal größer, als in dem ohne Kulturen. Wenn man nun noch in Betracht zieht, daß die CO_2-Quantität im Apparate mit Kulturen in der vierten Woche plötzlich mehr als um das Doppelte gestiegen ist, daß also die Lebensthätigkeit der Mikroorganismen noch im Steigen begriffen war, so könnte man voraussetzen, daß die Differenz bei längerer Dauer des Versuches noch größer ausgefallen wäre. Was den NH_3 anbetrifft, so ist die absolute Quantität desselben nicht groß, dennoch aber war er vorhanden, während die Portion ohne Kulturen NH_3 gar nicht ausschied. Außerdem geht bei Oxydationsprozessen ein Teil des H in Wasser über, und diese Wasserbildung war, wie es ja auch zu erwarten war, im Apparate mit Kulturen besonders bemerkbar: der Feuchtigkeitsgrad beider Mistportionen vor dem Versuche war 75,11 Proz.; nach dem Versuche war dieser im Miste ohne Kulturen 75,246 Proz., in dem mit Kulturen 77,187 Proz.

Der vorgeführte Versuch bestätigt noch einmal den allgemeinen Satz von der Bedeutung, welche der Lebensthätigkeit der Mikroorganismen bei der Zerlegung organischer Substanzen überhaupt zukommt; aus diesem Versuche ist außerdem zu ersehen, daß die Zersetzung des Mistes fast ausschließlich unter Einfluß der Lebensthätigkeit der Mikroorganismen vor sich geht und nur in geringem Grade durch den oxydierenden Einfluß des Sauerstoffes der Luft bedingt wird.

1) 2 Woche = 8 Tage.

Um weiter zu eruieren, welche Rolle in dem erhaltenen Effekte jedem einzelnen der Mikroorganismen zukomme, habe ich in derselben Anordnung weitere Versuche angestellt, wobei jede der Mistportionen mit je einem der genannten Mikroorganismen geimpft wurde. Jeder Versuch dauerte 2 Monate, gewogen wurde alle 5 Tage, auf den NH_3-Gehalt wurde jeden Monat einmal titriert. Nach Abschluß eines jeden Versuches wurden bakteriologische Kontrollanalysen ausgeführt, welche erwiesen, daß alle Versuche ohne Beimischung anderer Mikroorganismen vor sich gingen.

Die Resultate dieser Versuche sind in folgender Tabelle vorgeführt:

Tab. II.

Versuch am 4. März 1894 begonnen mit dem Mikroorganismus No. 1		Versuch am 24. Dezember 1893 begonnen mit dem Mikroorganismus No. 2		Versuch am 4. März 1894 begonnen mit dem Mikroorganismus No. 3	
Zeit der Wägungen	Zuwachs der CO_2 in g	Zeit der Wägungen	Zuwachs der CO_2 in g	Zeit der Wägungen	Zuwachs der CO_2 in g
9. März	0,413	2. Januar	2,320	9. März	0,142
14. „	1,020	7. „	1,368	14. „	0,850
19. „	0,845	12. „	0,603	19. „	1,485
24. „	0,625	17. „	0,331	24. „	0,820
29. „	0,504	22. „	0,307	29. „	0,381
3. April	0,245			3. April	0,195
Im ganzen während 30 Tagen	**3,652**	Im ganzen während 29 Tagen	**4,929**	Im ganzen während 30 Tagen	**3,873**
8. April	0,225	27. Januar	0,151	8. April	0,163
13. „	0,124	1. Februar	0,225	13. „	0,085
18. „	0,125	6. „	0,193	18. „	0,075
23. „	0,140	11. „	0,140	23. „	0,045
28. „	0,112	16. „	0,130	28. „	0,052
3. Mai	0,049	21. „	0,089	3. Mai	0,031
		24. „	0,069		
Im ganzen während 30 Tagen	**0,775**	Im ganzen während 33 Tagen	**0,997**	Im ganzen während 30 Tagen	**0,431**
Quantität des ausgeschiedenen NH_3 in g — während der ersten 30 Tage	0	Quantität des ausgeschiedenen NH_3 in g — während der ersten *29 Tage	0,0229	Quantität des ausgeschiedenen CO_2 in g — während der ersten 30 Tage	0
während der zweiten 30 Tage	0,0157	während der übrigen *33 Tage	0,0136	während der zweiten 30 Tage	0

Bei Betrachtung der Ziffern der vorgeführten Tabelle ersieht man, daß die Energie der Ausscheidung der CO_2 für alle drei Mikroorganismen eine gewisse Regelmäßigkeit zeigt: vom Zehntel eines Grammes beginnend (für den Mikroorganismus No. 2 ist die erste 5-tägige Periode durchgelassen), erreicht sie etwa nach 10—15 Tagen ihr Maximum und sinkt dann allmählich gegen das Ende der Ver-

suchsperiode, bis auf Hundertstel Gramme herabsteigend, d. h. bis zu dem Grade der Energie, mit welchem, wie aus Tab. I zu ersehen, die CO_2-Bildung unter dem oxydierenden Einflusse des Sauerstoffes der Luft allein vor sich geht, mit anderen Worten, die Lebensthätigkeit der Mikroorganismen hört, wenn sie sich einzeln im Miste befinden, gegen Ende des 2. Monates auf und die weitere CO_2-Bildung geschieht nur unter Einfluß des Sauerstoffes der Luft. Mit einander verglichen, zeigen die Mikroorganismen einen gewissen Unterschied in Bezug auf die Energie der Kohlensäureproduktion — der Mikroorganismus No. 2 produziert CO_2 energischer, als No. 1 und 3, diese beiden sind einander in dieser Hinsicht fast vollkommen gleich. Ganz anders verhalten sie sich zur Bildung des NH_3; erstens wird der NH_3 von ihnen in sehr unbedeutender Quantität gebildet, zweitens existiert hier die Regelmäßigkeit nicht, welche man bei der CO_2-Bildung notieren kann. — Der Mikroorganismus No. 2 scheidet NH_3 während der ganzen Versuchsperiode aus, in größerer Quantität während des ersten Monates (wenn auch die CO_2-Ausscheidung bedeutend größer war) und fast zweimal weniger während des zweiten Monates; der Mikroorganismus No. 3 scheidet NH_3 gar nicht aus, No. 1 zeigt in dieser Hinsicht folgende Besonderheit: Während des ersten Monates bildet er keinen NH_3 und fängt an, denselben erst im zweiten Monate zu produzieren, wenn die CO_2-Ausscheidung bedeutend gesunken ist. Wenn man den auf diese Weise erhaltenen NH_3, wie es Emil Marshall bei der Beschreibung seiner Versuche mit auf Hühnereiweiß kultivierten Erdebacillen thut, für einen nach der Oxydation organischer Substanz zurückbleibenden Rest oder noch anders für einen Begleiter der Atmung hält, so entsteht die Frage, warum ein solcher Rest nicht in dem Versuche mit dem Mikroorganismus No. 3 erhalten wurde, in welchem der Oxydationsprozeß ebenfalls sehr stark war und doch kein NH_3 auftrat, oder mit dem Mikroorganismus No. 1, wo die NH_3-Bildung eben dann begann, als der Oxydationsprozeß bedeutend gesunken war. Mir scheint es, daß man hier eine andere Erklärung suchen müsse, da aus meinen Versuchen erhellt, daß nicht immer als Resultat des Oxydationsprozesses NH_3 auftritt und daß die NH_3-Bildung einen spezifischen Charakter trägt, welcher nicht allen die organische Substanz verbrennenden Mikroorganismen eigen ist und daß, von den quantitativen Verhältnissen nicht zu reden, auch der Charakter der NH_3-Ausarbeitung nicht bei allen Mikroorganismen, welche ihn produzieren, der gleiche ist.

Vergleichen wir die Ziffern der ersten und zweiten Tabelle mit einander, so finden wir eine überaus interessante Erscheinung — es hat der Charakter der Lebensthätigkeit unserer Mikroorganismen unter Einfluß der Symbiose eine merkliche Modifikation erlitten. Wenn sich nämlich die Mikroorganismen von einander getrennt im Miste befinden, so sinkt der anfänglich sehr energische Oxydationsprozeß sehr rasch, indem er gegen Ende des ersten Monates bis zu 0,2—0,3 g CO_2-Ausscheidung herabsteigt, während dagegen beim Zusammenleben der Mikroorganismen die Quantität der ausgeschiedenen CO_2 gegen Ende des Monates bedeutend steigt. Leider war die Dauer des Versuches, in welchem die drei Mikroorganismen

zusammenlebten, nicht zwei Monate, wie die Dauer der Versuche mit isolierten Mikroorganismen, sonst hätte sich vielleicht der Einfluß der Symbiose noch weiter geäußert und könnte vielleicht eine weitere Steigerung der Energie des Oxydationsprozesses und eine Verschiebung des Zeitpunktes, wann die Lebensthätigkeit der Mikroorganismen gänzlich aufhört, konstatiert werden.

Die Summe der von jedem einzelnen Mikroorganismus ausgeschiedenen Menge — des Vergleichs wegen nur für den ersten Monat der betreffenden Versuche genommen — ist mehr als zweimal kleiner, als die Quantität der von den Mikroorganismen bei ihrem Zusammenleben ausgeschiedenen CO_2, summiert man aber die von den einzelnen Mikrobien produzierten Mengen, so übertrifft die erhaltene Ziffer die von diesen Mikrobien bei ihrem Zusammenleben ausgeschiedene CO_2-Menge.

Was die NH_3-Quantität anbetrifft, so erweist sich beim Vergleiche der Ziffern für den ersten Monat, daß das Zusammenleben der Mikroorganismen in dieser Hinsicht keinen Unterschied macht; es unterliegt keinem Zweifel, daß die NH_3-Bildung in dem Versuche, in welchem sie alle drei figurierten, ausschließlich auf Kosten des Mikroorganismus No. 2 zu stellen ist, da sich hier während eines Monates 0,025 g NH_3 bildet, d. h. fast ebenso viel, wie bei der isolierten Vegetierung des No. 2 im Miste, wobei 0,0229 g NH_3 ausgeschieden wurde.

Zum Schlusse halte ich es für eine angenehme Pflicht, zu erwähnen, daß mir die Bearbeitung dieser Frage von Herrn Prorektor A. J. Woitow, unter dessen Leitung das bakteriologische Laboratorium der Moskauer Universität steht, vorgeschlagen wurde und daß mir Herr Woitow bei der Ausführung dieser Arbeit nicht selten mit seinem kompetenten Rate beigestanden hat.

18. December 1894.

Bakteriologische Untersuchungen über den Reifungsprozess des Emmenthalerkäses.

Von

Dr. Ed. von Freudenreich,

Vorsteher des bakt. Laboratoriums der Molkereischule Rütti (Bern).

In einer früheren Arbeit[1]) habe ich bereits einige Resultate mitgeteilt, welche die bakteriologische Untersuchung von Emmenthalerkäse während der Reifungsperiode ergeben hatte. Ich habe damals gezeigt, daß in solchen Käsen zumeist Milchsäurefermente vertreten sind, und daß die Gelatine verflüssigende Arten, die sogenannten peptonisierenden Bakterien, eigentlich recht spärlich in denselben sich vorfinden. Höchstens in den ersten Tagen nach der Fabrikation waren solche, anders als bloß ausnahmsweise, vertreten, und zwar besonders ein

1) Landw. Jahrbuch der Schweiz. 1891. p. 16.

verflüssigender Micrococcus. Dieses Resultat war für mich etwas unerwartet gewesen; denn a priori hätte man meinen sollen, daß gerade diese Arten bei der Reifung eine Hauptrolle spielen würden, da bei diesem Prozesse das Kasein Veränderungen erleidet, die einer Peptonisierung nahe stehen. Auch hatte Duclaux bei seinen bahnbrechenden Untersuchungen über Weichkäse [1]) solche verflüssigende Bacillen gefunden, denen er den Namen Tyrothrix beilegte, und von welchen er mehrere Arten ausführlich beschrieben hat. Er studierte sie eingehend, zeigte, daß sie in der Milch tiefgehende Zersetzungen hervorbringen, bei denen sich Leucin, Tyrosin, Ammoniak u. s. w. bilden, so daß er sie als Hauptfaktoren bei der Reifung des Käses anzusehen geneigt war.

Bei meinen fortgesetzten Untersuchungen habe ich daher diesen Tyrothrixarten [2]), die, wie spätere Untersuchungen gezeigt haben, zur großen Gruppe der Heu- oder Kartoffelbacillen gehören, eine ganz besondere Aufmerksamkeit gewidmet. Von der Meinung ausgehend, daß vielleicht die in meinen früheren bakteriologischen Analysen gebrauchte Milchserumgelatine kein geeigneter Nährboden für sie sei, habe ich im Laufe der Untersuchungen die verschiedensten Züchtungsverfahren angewendet. Zunächst wurde neben der Milchserumgelatine, die den Milchsäurefermenten einen ausgezeichneten Nährboden liefert, die den letzteren weniger günstige, besonders, wenn sie ziemlich alkalinisch ist, gewöhnliche Nährgelatine in Anwendung gebracht, auf welcher die verflüssigenden Bacillen sehr gut gedeihen. Dann wurden, weil die Tyrothrixarten bei höherer Temperatur leichter wachsen, vielfach Agarplatten, und zwar Oberflächeplatten, wie ich solche in dem Centralblatt für Bakteriologie beschrieben habe, verwendet. (Bd. XV. p. 643.) Nähragar wird in Petri'sche Schalen gegossen und zum Erstarren gebracht. Während letzteres stattfindet, bereitet man die nötigen Verdünnungen der zu untersuchenden Flüssigkeit (Käseemulsion u. s. w.) mit sterilem Wasser, etwa in Reagenzgläsern, mit Hilfe einer sterilisierten Pipette oder einer Platinöse. Darauf gießt man einfach den Inhalt des Reagenzglases auf die Agarschicht und läßt die Flüssigkeit abfließen, indem man die Platte umkehrt. Die Platten werden dann umgekehrt, d. h. mit dem Deckel nach unten gerichtet, in den Brütofen gehalten. Man kann zu solchen Platten auch Milch mit Agar brauchen, wohl der beste Nährboden für die spezifischen Milchbakterien. Die Milch kann jedoch nicht direkt mit Agar vermischt im Autoklaven sterilisiert werden, weil dabei, wie ich bemerkt habe, stets eine Ausscheidung des Kaseïns stattfindet. Man muss daher Milch und Agar (2 % Lösung) in Reagenzgläsern gesondert sterilisieren (ca. 5 ccm von jedem). Will man dann eine Platte herstellen, so wird ein Agargläschen in kochendem Wasser flüssig gemacht, die Milch ebenfalls gewärmt und der Inhalt beider Gläser in eine Petri'sche Schale ausgegossen; man schüttelt vorsichtig, damit Agar und Milch sich gut mischen, und läßt erkalten.

---

1) Duclaux, Le lait. Paris 1887.

2) Da dieselben die Gelatine verflüssigen, werde ich sie auch der Kürze halber „verflüssigende Bacillen“ nennen.

Die Platte ist dann schön milchig weiß; sie ist zwar undurchsichtig, da indessen nur Oberflächenkolonieen in Betracht kommen, so ist dieses kein Nachteil. Auf solchen Oberflächeplatten bilden nun alle diese heubacillenartigen Bakterien leicht kenntliche Kolonieen.

Ferner habe ich, wie Duclaux, öfters einen Tropfen der zur Analyse verwendeten Käseemulsion oder ihrer Verdünnungen direkt in Bouillon geimpft, in welcher sich bei Abwesenheit von Zucker die Milchsäurebakterien nur schlecht entwickeln, so daß etwa vorhandene Tyrothrixkeime leicht die Oberhand erhalten. Endlich habe ich mich in letzter Zeit ebenfalls nach dem Vorgange Duclaux's eines besonderen Verfahrens bedient, welches es möglich macht, die Tyrothrixarten, wenn sie gegenwärtig sind, leicht zu isolieren. Die Tyrothrixarten zeichnen sich nämlich durch große Widerstandskraft gegenüber der Wärme aus; ihre Sporen können wie die der Heubacillen das Kochen oft stundenlang vertragen. Man braucht daher bloß die Käseemulsion fünf Minuten lang auf ca. 85° zu erwärmen und dann Platten zu gießen. Die Milchsäurefermente werden durch das Erwärmen abgetötet, und es bleiben nur noch die resistenten Tyrothrixarten am Leben, welche sich dann auf den Gelatineplatten leicht entwickeln. Ich habe mich öfters durch Kontrollversuche überzeugt, daß aus Gemischen, aus welchen sich nur schwer oder gar nicht Tyrothrixarten mittels des gewöhnlichen Plattenverfahrens isolieren ließen, weil sie von den zahlreicheren Milchsäurefermenten auf den Platten erdrückt waren, sich nach vorhergehender Erwärmung diese verflüssigenden Bacillen leicht züchten lassen, so daß auch ihre Zahl festgestellt werden konnte.

Wie bei Anlaß der einzelnen Untersuchungen erwähnt werden wird, habe ich auch öfters anaërobe Plattenkulturen angelegt. Zu diesem Zwecke bediene ich mich einfacher Reagenzgläser, welche Gelatine mit einer dieselbe bedeckenden, ca. 2 cm hohen Schicht von Vaseline und Paraffin (98 % Vaselin und 2 % Paraffin) enthalten. Um die Luft vollständig zu vertreiben, wird das so präparierte Glas im Autoklaven bei 115° sterilisiert. Will man impfen, so macht man die Gelatine bei 35° flüssig, wobei das Gemisch von Vaselin und Paraffin festbleibt; dann saugt man in eine ganz dünn ausgezogene sterilisierte Pipette etwas von der zu untersuchenden Käseemulsion, resp. ihrer Verdünnung ein, schmelzt das Ende zu, stößt die Pipette durch das Vaselin bis auf den Boden des Reagenzglases, so daß die Spitze abbricht, und bläst etwa einen Tropfen ein. Die Pipette wird herausgezogen, die Oeffnung in der Vaselindecke zugeschmolzen und das Glas hin und her bewegt, um die Keime gut zu verteilen. Dann läßt man die Gelatine erstarren. Der einzige Nachteil dieser Methode ist, daß man später das Reagenzglas zerbrechen muß, um die Kolonieen bequem herauszufischen. Bei der Billigkeit der Reagenzgläser ist dieses jedoch kaum von Belang. Endlich wurden öfters auch einfache Stichkulturen in hohe Milchserumagarschicht angelegt.

Das Verfahren zur bakteriologischen Untersuchung einer Probe Käse, wie ich es jetzt übe, ist somit folgendes:

Mit sterilem Messer entnimmt man aus dem Innern der Käsemasse 0,2 g Käse, den man mit einem sterilen Glasstabe in 5 ccm

sterilisiertem Wasser verreibt. Ich bediene mich dazu der kleinen von mir eingeführten Kulturfläschchen. Ein Nachteil ist dabei nicht zu vermeiden: die Käsemasse läßt sich nicht vollständig durch Verreiben auflösen, und je frischer sie ist, desto schwieriger ist diese Operation. Die gefundenen Bakterienzahlen können daher nicht auf absolute Genauigkeit Anspruch machen, und es können, je nachdem die Verreibung eine mehr oder weniger vollständige gewesen ist, ziemliche Schwankungen sich geltend machen. Indessen glaube ich, daß bis jetzt noch keine bessere Methode erfunden worden ist, der die gleichen Nachteile nicht anhaftet. Man muß sich daher darauf beschränken, möglichst gleichmäßig zu operieren, um gut vergleichbare Resultate zu erhalten. Von dieser Emulsion stellt man nun noch zwei Verdünnungen her, indem man 1 oder 2 Tropfen mit einer Pipette, welche genau 20 Tropfen per Kubikcentimeter giebt. in 5 ccm sterilisiertes Wasser einsät. Von der Originalemulsion und den zwei Verdünnungen stelle ich nun zunächst Gelatineplatten her, und zwar 3 Milchserumgelatineplatten und 3 aus gewöhnlicher Gelatine, wobei die Gelatine mit 1 oder 2 Tropfen der Verdünnungen, resp. der Emulsion geimpft wird. Dann werden 3 Agar- und 3 Milchagaroberflächenplatten gegossen, indem man mittels Pipette ca. 1 ccm der Emulsion resp. der Verdünnungen zum Begießen der Oberfläche, wie oben beschrieben wurde, verwendet. Die Originalemulsion wird dann im Wasserbade auf 85° fünf Minuten lang erwärmt und dann zu weiteren Plattenkulturen gebraucht. Zum Impfen der Gelatine und Bereiten der Verdünnungen nehme ich in letzterem Falle immer fünf Tropfen. Auch anaërobe Platten legt man vor dem Erwärmen der Emulsion an.

Ich gehe nun über zu den Resultaten meiner bakteriologischen Untersuchungen, die sich auf fünf verschiedene, in der Molkereischule Rütti hergestellte Emmenthalerkäse erstrecken, die mehrmals während ihrer Reifung analysiert wurden.

1. Käse vom 24. Juni 1892[1]).

24. Juni 1892. Frische Käsemasse. Man findet in derselben:

1) Vor allem den bekannten ovalen Coccus (Milchsäureferment).

2) Einige Kolonieen des von früherher bekannten verflüssigenden Micrococcus, der im frischen Käse stets vorkommt.

3) Einige Kolonieen eines verflüssigenden Bacillus, welcher den Namen Bacillus 1 erhält. Er erweist sich später als identisch mit B. megaterium.

4) Drei Kolonieen eines verflüssigenden Bacillen: Bacillus 2.

5) Auch einige Kolonieen eines anderen verflüssigenden Bacillus, welcher später den Namen Bacillus 4 erhält.

Im Mittel ca. 75 000 Bakterien per Gramm.

Mit Ausnahme einer einzigen Kolonie hatten sich alle verflüssigenden Bakterienarten nur in der gewöhnlichen Gelatine entwickelt.

1) Bei den Analysen dieses Käses wurde Milchserumgelatine mit gewöhnlicher Gelatine gebraucht. Auch anaërobe Platten wurden mehrmals in Anwendung gebracht. Um den Leser nicht zu sehr zu ermüden, gebe ich nur ein kurzes Résümé jeder einzelnen Analyse.

29. Juni 1894. In diesem nun 5 Tage alten Käse findet man nur noch den ovalen Coccus. Eine anaërobe Platte giebt das gleiche Resultat.

1. Juli 1892. Wiederum nur der ovale Coccus.

4. Juli 1892. Auf der 1. Platte (gewöhnliche Gelatine) neben unzählbaren Kolonieen eines Milchsäurefermentes (Micrococcus) 6 Kolonieen von Bacillus 1, was ca. 6000 Keimen per Gramm entspricht. Der Milchsäurefermente giebt es über 100 Millionen per Gramm; auf der Milchserumgelatineplatte wuchsen Kolonieen eines sarcineartigen Micrococcus, der später nicht mehr angetroffen wurde.

7. Juli 1892. Auf der 1. Gelatineplatte einige Kolonieen von Bacillus 1, auf der 2. Platte eine Kolonie eines Bact. termo ähnlichen Bacillus, der später vollständig verschwindet. Sonst nur der ovale Micrococcus.

12. Juli 1892. Nur der ovale Coccus.

19. Juli 1892. Der ovale Coccus und dazu der von früher her bekannte Bacillus α, auch ein Milchsäureferment.

22. Juli 1892. Auf der ersten Platte 4 Kolonieen von Bacillus 1, was nach der Zahl der eingesäten Tropfen 1000 Keime per Gramm giebt. Daneben nur der ovale Coccus.

25. Juli 1892. Circa 2 500 000 Kolonieen per Gramm von Bacillus α und des ovalen Coccus. Daneben einige Kolonieen (ca. 6500 per Gramm) des von früher her bekannten runden Micrococcus α, auch ein Milchsäureferment.

29. Juli 1892.
1. Aug. „
5. „ „
8. „ „
12. „ „
16. „ „
23. „ „
} In diesen Analysen findet man nur den Bacillus α und den ovalen Coccus, meistens einige Millionen per Gramm.

In diesem Käse waren wie gewöhnlich die Milchsäurefermente, besonders Bacillus α und der ovale Coccus in großer Zahl vorhanden. Daneben, besonders im Anfange, jedenfalls nicht mehr nach 4 Wochen und nicht regelmäßig, eine im Verhältnisse zu den Milchsäurefermenten kleine Zahl von Kolonieen des Bacillus 1 (B. megaterium), sowie hie und da vereinzelte Kolonieen der Bacillen 2 und 4 und eines Bact. termo ähnlichen Bacillus. Eine Vermehrung haben diese verflüssigenden Bacillen während der Reifung jedenfalls nicht erfahren, und man hat den Eindruck, daß sie von Anfang an gegenwärtig waren und nur eine Zeit lang sich im Käse lebend erhalten konnten. In dem frischen Käse war, wie immer, der verflüssigende Coccus vorhanden.

Ueber Versuche, die mit diesen verflüssigenden Bacillen gemacht wurden, werde ich weiter unten berichten.

2. Käse vom 13. Mai 1893.

Bei dieser Analyse wurden gewöhnliche und Milchserumgelatine, sowie Agaroberflächenplatten und Bouillon angewandt.

15. Mai 1893. 750 000 Bakterien per Gramm.

Die Gelatineplatten geben besonders den Bacillus α und den ovalen Coccus, daneben einige Kolonieen des Bacillus Schafferi.

Auf den Agarplatten (Milchserumagar, auf welchem auch die verflüssigenden Bacillen sehr gut gedeihen), ausser den erwähnten Mikroorganismen auch Kolonieen eines ziemlich langen und dicken Bacillus, der auch zur Gruppe der Milchsäurefermente gehört und die Gelatine nicht verflüssigt. Denselben findet man später öfters, aber gewöhnlich nur auf den Agaroberflächenplatten. Er wird Bacillus δ genannt. Verflüssigende Bacillen liefsen sich auf keiner der Platten nachweisen.

Um die anaëroben Arten zu begünstigen, wurden auch von der Käseemulsion direkte Einstiche in Milchserumagarröhren gemacht. In diesen Stichkulturen wuchsen nun aufser den bekannten Organismen sehr zahlreiche, grofse, meist etwas gebogene Bacillen, die durch weiteres Ueberimpfen zuweilen in Reinkulturen erhalten wurden. Sie bringen auch die Milch zum Gerinnen in gleicher Weise wie die Milchsäurefermente, sind mehr anaërober Natur und sind überhaupt nicht leicht kultivierbar. Seither habe ich sie fast in jedem Käse gefunden, indem ich solche Stichkulturen anlegte; nur sehr selten fand ich sie hier und da in einer anaëroben Gelatineplatte oder auf einer Milchagaroberflächenplatte. Es zeigt überhaupt dieses Beispiel, wie mangelhaft ausgebildet unsere Kulturmethoden noch sind. Ich werde denselben als Bacillus ε bezeichnen. (Einen Bacillus β und γ haben wir schon früher kennen gelernt.)

19. Mai 1893. Keine einzige Kolonie verflüssigender Bacillen. Nur Bacillus α, Bacillus δ und in den Stichkulturen Bacillus ε.

23. Mai 1893. Circa 15 000 000 Bakterien per Gramm. Die Gelatineplatten geben nur Bacillus α und Bacillus δ; ebenso die Agarplatten. Nur auf einer der letzteren wächst eine Kolonie eines verflüssigenden Bacillus, den man Bacillus 5 tauft. Ein Stück sterilisierte, frische Käsemasse, auf welches mehrere Tropfen der Käseemulsion gegossen wurden, wurde total verflüssigt, wie das der Fall ist, wenn tyrothrixartige Organismen bei höherer Temperatur auf sterilem Käse sich entwickeln können. Aus diesem verflüssigten Käsestücke züchtete man einen Bacillus, welcher Nr. 3 erhielt und später als identisch mit Tyrothrix tenuis Duclaux sich erwies.

27. Mai 1893. Weder auf den Gelatine-, noch auf den Agarplatten wachsen verflüssigende Bacillen, sondern nur Bacillus α und Bacillus δ. In dieser Analyse hatte man auch stark alkalinische neben der gewöhnlichen und der Milchserumgelatine angewandt. Die Stichkulturen in Milchserumagar geben wieder den Bacillus ε neben Bacillus α und Bacillus δ.

2. Juni 1893. Die gleichen Milchsäurefermente wie früher. Keine verflüssigenden Bacillen. Selbst direkt mit der Käseemulsion geimpfte Bouillonröhrchen (in welchem Nährmedium die Tyrothrixarten sich sehr rasch entwickeln), bleiben steril oder geben nur Milchsäurefermente. Sterile Käsemasse wird diesmal durch Impfung mit mehreren Tropfen der Käseemulsion nicht verändert, ein Beweis, dafs sie keine Tyrothrix-arten enthielt.

8. Juni 1893. Nur die gewöhnlichen Milchsäurefermente, Bacillus α,

δ und ε. Aauf den Gelatineplatten auch einige Kolonieen des Micrococcus a, auch ein Milchsäureferment. Auf den Milchagarplatten dreier Verdünnungen findet man aufserdem ganz kleine, graue Kolonieen, aus Bacillus ε bestehend, der sonst nur in Stichkulturen gewachsen war.

Sterilisierte Käsemasse, mit der Käsemasse direkt geimpft, blieb unverändert.

17. Juni 1893. Circa 20—30 Millionen Bakterien per Gramm. Auf den Gelatine- und Agarplatten wachsen nur die früheren Milchsäurefermente. Von drei Bouillongläsern, die mit je einem Tropfen der Käseemulsion geimpft werden, geben zwei schwache Kulturen von Milchsäurefermenten (in gewöhnlicher Nährbouillon wachsen letztere nur schlecht), und eines giebt eine Kultur eines verflüssigenden Bacillus, der später den Namen Bacillus 6 erhält. Da nur eines der drei geimpften Kulturgläschen mit Bouillon verflüssigende Bacillen gab, so ist wahrscheinlich, dafs letztere Kultur einem einzigen Keime ihre Entstehung verdankte.

26. Juni 1894. Circa 40 Millionen Bakterien per Gramm. Die Gelatine- und Agarplatten geben wiederum nur die Milchsäurefermente. Auch zwei direkt mit der Käseemulsion geimpfte Bouillonröhrchen geben keine verflüssigenden Bacillen; dagegen giebt ein Kolben sterilisierter Käsemasse, der mit mehreren Tropfen der Käseemulsion geimpft worden war, den Bacillus megaterium (Bacillus 1). Somit sehr geringe Anzahl verflüfsigender Bacillen auch in dieser Käseprobe.

17. Juli 1893. 20 000 000 Bakterien per Gramm.

Die Gelatineplatten geben nur die Milchsäurefermente. Die erste Agarplatte giebt 6 Kolonieen des Bacillus 3 (T. tenuis Duclaux). Die 2 anderen Agarplatten geben nur Milchsäurefermente.

25. Juli 1893. Die Platten geben aufser den gewöhnlichen Milchsäurefermenten nur eine Kolonie verflüssigender Bacillen, nämlich Bacillus 3 (1. Agarplatte). Zwei Bouillonröhrchen, mit der Emulsion geimpft, geben keine verflüssigenden Bacillen. Sie sind daher wohl auch in dieser Probe sehr spärlich vertreten.

31. Juli 1893. Die Zahl der Bakterien nimmt bedeutend ab. Auf der ersten Agarplatte, mit der Emulsion direkt übergossen, eine Kolonie eines verflüssigenden Bacillus, der die Nummer 7 erhält. Sonst nur Milchsäurefermente.

Während also bei dem Käse vom 24. Juni 1892 unter 16 Analysen nur viermal tyrothrix ähnliche Arten gefunden wurden (Bacillus 1, 2, 4 und ein Bact. termo ähnlicher Bacillus, und zwar immer nur in ganz vereinzelten Kolonieen auftretend), fand man bei der Untersuchung des Käses vom 13. Mai 1893, bei der auch die zur Auffindung der Heubacillen so günstigen Agaroberflächeplatten in Anwendung kamen, unter 11 Analysen nur sechsmal verflüssigende Bacillen (Bacillus 1, 3, 5, 6, und 7) aber auch wieder in ganz spärlicher Zahl, hie und da eine oder zwei Kolonieen auf einer Platte gegenüber zahllosen Kolonieen von Milchsäurefermenten.

3. Käse vom 8. Juni 1893.

(Gelatine- und Agaroberflächeplatten, Bouillon u. s. w.)

8. Juni 1893. Frische Käsemasse. Ca. 80 000 Bakterien per Gramm. Keine einzige Heubacillenkolonie. Ziemlich viel Kolonieen des ver-

flüssigenden Coccus. Sonst nur Milchsäurefermente, nämlich der ovale Coccus, Micrococcus a, Bacillus α und einige Kolonieen des Bacillus ε auf den Agarplatten.

12. Juni 1893. Die Bakterien haben sich bereits stark vermehrt. Man findet in grofser Anzahl: Bacillus α und Bacillus δ. In den Stichkulturen auch Bacillus ε.

Daneben zwei Kolonieen eines verflüssigenden Bacillus auf einer Gelatineplatte. Auch wird eine Kulturschale sterilisierter Käsemasse, die mit einigen Tropfen der Käseemulsion geimpft worden, zersetzt; man isoliert aus derselben einen verflüssigenden Bacillus, der die Nummer 9 erhält. Dagegen entwickeln sich keine solche verflüssigenden Bacillen in zwei mit je einem Tropfen der Käseemulsion geimpften Bouillonkölbchen. Die Anzahl derselben mufs daher wohl verschwindend klein gewesen sein.

17. Juni 1893. Ca. 16 000 000 Bakterien per Gramm. Keine einzige Kolonie von verflüssigenden Bacillen. Wiederum nur Bacillus α und δ, nebst Bacillus ε in den Stichkulturen.

26. Juni 1893. Keine verflüssigenden Bacillen auf den Platten; nur die bekannten vorgenannten Milchsäurefermente.

Zwei Bouillonkölbchen, direkt mit der Käseemulsion geimpft, geben auch keine verflüssigenden Bacillen. Nur eine Schale sterilisierter Käsemasse in gleicher Weise geimpft, zersetzt und verflüssigt sich; man isoliert aus derselben einen Bacillus, welcher die Nummer 10 erhält.

5. Juli 1893. Auf den Gelatineplatten nur Bacillus α und δ. Die gleichen Mikroorganismen auf den Agarplatten, dazu auf einer Agarplatte eine Kolonie von Bacillus 3. Bouillon und sterilisierte Käsemasse mit der Käseemulsion geimpft, geben keine verflüssigenden Bacillen. Letztere müssen daher im Käse recht spärlich vertreten sein.

8. Juli 1893. Keine verflüssigenden Bacillen auf den Gelatineplatten, sondern nur Bacillus α.

Auf den Agarplatten Bacillus α, δ und ε, nebst einer Kolonie von Bacillus 3. In Bouillon entwickeln sich keine verflüssigenden Bacillen, wohl aber in sterilisierter Käsemasse. Anaërobe Agarplatten geben nur die erwähnten Milchsäurefermente.

17. Juli 1893. Die vorgenannten Milchsäurefermente und eine Kolonie eines dicken, verflüssigenden Bacillus, wahrscheinlich identisch mit Bacillus 1.

25. Juli 1893. Nur Bacillus α und δ. Selbst sterilisierte Käsemasse mit der Emulsion geimpft, geben keine verflüssigenden Bacillen.

31. Juli 1893. Wiederum die gleichen Milchsäurefermente. Dazu eine Kolonie eines verflüssigenden Coccus, wohl eine zufällige Verunreinigung und, auf sterilisierter Käsemasse, mit der Emulsion des Käses geimpft, einen verflüssigenden Bacillus, der die Nummer 11 erhält. Auch hier also jedenfalls sehr spärliche verflüssigende Bacillen.

7. August 1893. Besonders Bacillus α unter den Milchsäurefermenten vertreten. Daneben zwei Kolonieen verflüssigender Bacillen auf den Agarplatten, die eine von Bacillus 6, die andere von einem nicht weiter untersuchten Bacillus.

22. August 1893. Nur die gewöhnlichen, in diesem Käse bereits gefundenen Milchsäurefermente.

Dieser Käse wurde somit elfmal bakteriologisch untersucht. Viermal war es unmöglich, in den untersuchten Proben verflüssigende Bacillen zu finden. Die übrigen Male fand man bloß vereinzelte Kolonieen derselben (Bacillus 3 zweimal, Bacillus 1, 6, 9, 10 und 11 je einmal).

4. Käse vom 5. Juli 1893.

(Gelatine- und Agaroberflächeplatten, Bouillon u. s. w.)

2. Juli 1893. Besonders Milchsäurefermente. Wie gewöhnlich im frischen Käse ziemlich viele Kolonieen des verflüssigenden Coccus. Auf einer Agarplatte drei Kolonieen des Bacillus 6 und eine derselben auf der zweiten Gelatineplatte. Da auf der Platte erster Verdünnung keine Kolonieen desselben vorkommen, so scheint er immerhin in spärlicher Anzahl vorhanden gewesen zu sein.

Auf den Agarplatten hat man zwei verflüssigende Kokkenarten, die eine bildet weifse, die andere gelbliche Kolonieen; sonst verhalten sie sich gleich.

In den Agarstichkulturen Bacillus ε nebst anderen Milchsäurefermenten.

10. Juli 1893. Milchsäurefermente. Bacillus α, Bacillus δ und ovale Kokken. Auf den Agarplatten drei Kolonieen des Bacillus 3, zwei auf Platte I und eine auf Platte III.

Direkte Impfung der Käseemulsion in Bouillon giebt jedoch Bacillus 3 nicht; auch erleidet eine Schale sterilisierter frischer Käsemasse nach Impfung von 3 Tropfen der gleichen Käseemulsion keine Zersetzung. Bacillus 3 ist daher nicht in grofser Anzahl vorhanden.

17. Juli 1893. Auf einer Agarplatte eine Kolonie eines verflüssigenden Bacillus, welcher die Nummer 8 erhält. Bei direkter Impfung der Käseemulsion in Bouillon wächst in einem der zwei geimpften Kulturgläser Bacillus 6. Sonst nur Bacillus α und δ.

25. Juli 1893. Sehr zahlreiche Kolonieen von Bacillus α und δ. Auf einer Milchzuckergelatineplatte eine Kolonie von Bacillus 6. Keine auf den Agarplatten. Aufser Bacillus α und δ findet man auf den Agarplatten ein anderes Milchsäureferment, ein etwas dünneres Stäbchen als Bacillus δ. Er scheint identisch zu sein mit dem früher beschriebenen Bacillus β (Landw. Jahrb. der Schweiz. 1891). Direkt mit der Käseemulsion geimpfte sterilisierte frische Käseemulsion zersetzt sich; man findet in derselben den Bacillus 6.

31. Juli 1893. Auf den Agarplatten im Ganzen drei Kolonieen verflüssigender Bacillen; eine giebt den Bacillus 6. Die zwei anderen scheinen aus dem gleichen Bacillus zu bestehen, sind indessen nicht näher studiert worden. Auf den Gelatineplatten keine verflüssigenden Kolonieen.

Bacillus α und δ sehr zahlreich.

7. August 1893. Mit Ausnahme einer Kolonie von Bacillus 3 auf einer Agarplatte, nur die gewöhnlichen Milchsäurefermente.

22. August 1893. Nur Milchsäurefermente.

Dieser Käse wurde somit siebenmal analysiert. Jedesmal fand man hier verflüssigende Bacillen (Bacillus 6, 3 und 8), jedoch wiederum nur vereinzelte Kolonieen. Eine Vermehrung derselben während

der Reifung scheint jedenfalls nicht stattgefunden zu haben. Im übrigen fand man wiederum äußerst zahlreiche Milchsäurefermente, besonders Bacillus α, δ, ε und β, auch den ovalen Coccus und im Anfange verflüssigende Kokkenkolonieen. Oefters wurden auch bei dieser Analyse anaërobe Platten angelegt; auf denselben wuchsen jedoch nur die Milchsäurefermente.

5. Käse vom 8. April 1894.

Bei der Analyse dieses Käses wurde wie gewöhnlich verfahren; außerdem aber wurde auch die Käseemulsion ca. 5 Minuten lang auf 80—85° erwärmt und dann Gelatineplatten mit derselben angelegt. Wie oben erwähnt, erleichtert diese Methode das Auffinden der mit sehr resistenten Sporen versehenen Tyrothrix-Bacillen ungemein.

9. April 1894. Auf den Platten erhält man verflüssigende Kokken, den ovalen Coccus, die Bacillen δ und ε, ferner eine Hefekolonie. Die erwärmte Emulsion giebt sterile Platten.

13. April 1894. Ovaler Coccus, Bacillus α, ε und δ, zwei Hefekolonieen, einige Kolonieen von Bacillus Schafferi und eine einzige Kolonie eines verflüssigenden Bacillus, jedoch auf einer Platte zweiter Verdünnung, und am Rande derselben, wahrscheinlich also eine zufällige Verunreinigung der Platte. In diesem Stadium ca. 6250000 Bakterien per Gramm. Die erwärmte Emulsion giebt nur sterile Platten.

4. Mai 1894. Die Zahl der Bakterien hat zugenommen: ca. 16875000 per Gramm. Die gleichen Milchsäurefermente, besonders Bacillus α. Dazu zwei oder drei Kolonieen von Bacillus Schafferi. Die erwärmte Emulsion giebt auf der ersten Platte eine Kolonie eines verflüssigenden Bacillus, was einem Gehalte von 100 Bacillen per Gramm entsprechen würde, also nicht einmal der hunderttausendste Teil der in diesem Käse vorhandenen Milchsäurefermente. Dieser Bacillus wurde nicht näher untersucht.

Gleichzeitig untersuchte man an diesem Tage drei andere Käse gleichen Alters; in keinem derselben konnte man verflüssigende Bacillen auffinden.

9. Juni 1894. Keine einzige verflüssigende Bacillenkolonie, auch nicht auf den Platten, die mit der erwärmten Emulsion hergestellt werden. Die gewöhnlichen Milchsäurefermente in großer Zahl (mehrere Millionen per Gramm). Die Agarplatten geben auch einige verflüssigende Kokken und einen gelben, nicht verflüssigenden Coccus. Dieselben sind indessen ohne Wirkung auf Milch und scheinen bloß eine zufällige Verunreinigung gewesen zu sein.

Die anaëroben Platten geben nur die Milchsäurefermente.

13. Juli 1894. Die Gelatineplatten geben den ovalen Coccus; die Milchzuckergelatineplatten den Bacillus α und den ovalen Coccus; die Agarplatten die Bacillen α und δ, öfters mit Bacillus ε vermischt, und einen Coccus.

Die erwärmte Emulsion giebt sterile Platten.

Unter fünf Analysen dieses Käses ließen sich also nur einmal (eine einzige Kolonie) verflüssigende Bacillen nachweisen. Sonst waren nur Milchsäurefermente und, im Anfang, verflüssigende Kokken vorhanden.

Unter den erwähnten, an fünf verschiedenen Käsen ausgeführten 50 Analysen wurden somit nur 25mal, also genau in der Hälfte der Fälle, verflüssigende Bacillenarten gefunden, jedoch, wie gesehen wurde, nur vereinzelt, ohne daß je eine Vermehrung derselben eingetreten wäre. Ihr Vorkommen ist ziemlich unregelmäßig; einzelne Käse, ohne daß Unterschiede in der Reifung sich zeigen, scheinen reicher an denselben zu sein, und zwar dann von Anfang an, so der Käse vom 5. Juli 1893; und es macht den Eindruck, als ob bereits die verkäste Milch sie von Anfang an in größerer Anzahl enthalten habe und daß sie bloß deswegen später im Käse öfters gefunden worden seien.

Die gefundenen verflüssigenden Bacillen wurden, sofern sie nicht zu der gleichen Art gehörten, vorläufig mit Nummern versehen und später näher studiert. Es würde zu weit führen, sie hier alle genau zu beschreiben, zumal einige derselben so selten vorkamen, daß ihnen unmöglich eine große Bedeutung bei dem Reifungsprozeß des Emmenthalerkäses zukommen kann. Im allgemeinen sind es bewegliche Bacillen, mit resistenten Sporen versehen, welche die Milch stark bitter machen und gelb verfärben. Sterilisierte Käsemasse zersetzen sie gänzlich, auch unter Bildung eines sehr bitteren Geschmackes. Sie entwickeln sich am besten bei höherer Temperatur, bringen aber bei Zimmertemperatur die gleichen Veränderungen hervor, nur geht es dann länger. Sie machen die Milch stark alkalisch und entwickeln sich in sauren Nährmedien schlecht. Auf Agar bilden viele derselben gelbliche oder weißliche, gerunzelte Auflagerungen, ganz wie die Kartoffelbacillen und die meisten Tyrothrix-Arten von Duclaux; bei anderen bleibt die Oberfläche der Kultur, welche rasch den Agar mit einem grauen oder gelblichen Rasen überzieht, glatt, so z. B. die Bacillen 4, 5, 7, 8, 9, 10 und 11.

Ueber das häufigere oder seltenere Vorkommen der einen oder anderen Art in den fünf untersuchten Emmenthalerkäsen giebt die folgende Tabelle Auskunft:

Bacillus	1	(Bacillus megaterium)	wurde	6mal	gefunden.
„	2		„	1mal	„
„	3	oder (Tyrothrix tenuis)	„	7mal	„
„	4		„	1mal	„
„	5		„	1mal	„
„	6		„	7mal	„
„	7		„	1mal	„
„	8		„	1mal	„
„	9		„	1mal	„
„	10		„	1mal	„
„	11		„	1mal	„

Schon diese Tabelle beweist, daß eine ganze Anzahl dieser Bacillen, weil nur einmal gefunden, wohl nur als zufällige Beimischung anzusehen sind.

Ihre Verteilung in den verschiedenen Käsen war folgende:

Käse vom 24. Juni 1892:	4mal	Bacillus	1	unter	16	Analysen.
	1mal	„	2	„	16	„
	1mal	„	4	„	16	„
Käse vom 13. Mai 1893:	3mal	„	3	„	11	„
	2mal	„	6	„	11	„
	1mal	„	1	„	11	„
	1mal	„	5	„	11	„
	1mal	„	7	„	11	„
Käse vom 8. Juni 1893:	2mal	„	3	„	11	„
	1mal	„	1	„	11	„
	1mal	„	6	„	11	„
	1mal	„	9	„	11	„
	1mal	„	10	„	11	„
	1mal	„	11	„	11	„
Käse vom 5. Juli 1893:	4mal	„	6	„	7	„
	2mal	„	3	„	7	„
	1mal	„	8	„	7	„

Beim Käse vom 8. April 1894 wurde die Art der einzigen vorgefundenen verflüssigenden Kolonie nicht näher bestimmt.

Vergleicht man nun die Zahl der jedesmaligen Analysen mit der Häufigkeit der Gegenwart des einen oder anderen dieser Bacillen, so sieht man, daß sie keineswegs eine konstante Erscheinung sind, und es ist schwer zu verstehen, wie sie, selbst die relativ häufiger vorkommenden Arten, wie Bacillus 1, 3 und 6, eine Hauptrolle bei der Reifung des Käses spielen sollten.

Da nun Duclaux seine Tyrothrix-Arten in Weichkäsen gefunden hatte, so machte ich vorerst noch eine Serie bakteriologischer Untersuchungen an verschiedenen Weichkäsen, um zu sehen, ob vielleicht in diesen die verflüssigenden Bacillen zahlreicher seien als in den Emmenthalerkäsen. Häufig wurden die Käse nach einer ersten Analyse für zwei Tage bei ca. 30° belassen, um eine ausgiebige Vermehrung der Tyrothrix-Arten zu ermöglichen, und dann eine zweite bakteriologische Untersuchung vorgenommen. Zur Analyse wurden Gelatine und Agarplatten, später auch das Verfahren der erwärmten Käseemulsionen in Anwendung gebracht. (Fortsetzung folgt.)

Zusammenfassende Uebersichten.

Uebersicht über die Methoden zur Reinzüchtung von Mikroorganismen.

Von
Dr. F. Schönfeld
in
Berlin.

Die ersten Anfänge zur Darstellung von Reinkulturen reichen zurück bis auf Ehrenberg und Kützing, die das Auskeimen von Pilzsporen im Tropfen studierten, blieben aber auf lange Zeit hin so lückenhaft, daß erst Brefeld (1) in Anlehnung an die von de Bary angedeuteten, aber nicht folgerichtig weitergeführten Kulturmethoden eine exakte Methode ausarbeiten mußte, um seine Studien über die Morphologie der Schimmelpilze einwandsfrei durchzuführen. Sein Grundsatz war, nur eine Zelle zum Ausgangspunkte seiner Untersuchungen zu wählen, sie in reine, pilzfreie, künstliche Nährlösungen auszusäen und sie in ihrem Entwickelungsgange unter dem Mikroskope zu beobachten. Solche Reinkulturen gewann er, indem er einen kleinen Teil des Sporen- resp. Zellenmaterials mit sterilem Wasser soweit verdünnte, daß ein Tröpfchen dieser Mischung bei der Durchsuchung mit dem Mikroskope nur einen Keim enthielt. Dieses Tröpfchen wurde entweder auf einen sterilen Objektträger aufgetragen und mit Nährlösung versehen, worauf dann die Kultur in eine feuchte Kammer gelegt wurde, oder es wurde in eine Böttcher'sche Kammer gebracht. Durch mikroskopische Beobachtung wurde die weitere Entwickelung verfolgt. Die Nährlösungen waren meistens flüssig, doch wurde besonders für die Tropfenkultur auf dem Objektträger auch ein Gelatinenährboden zur Verhinderung von zu schnellem Austrocknen in Benutzung genommen. An Stelle der gewöhnlichen Hohlkammer gebrauchte er später, so besonders bei seinen Arbeiten über den Bacillus subtilis, auch bei seinen Schimmelpilzuntersuchungen, eine der v. Recklinghausen'schen nachgebildete Kammer mit ganz dünnen, schmalen Wänden und zwei eng ausgezogenen Röhren, durch welche die stark verdünnte Flüssigkeit in die Kammer eingesaugt wurde, um nach Benetzung der Wände wieder abgelassen zu werden. Die zurückgehaltene Flüssigkeit soll nur eine Zelle in sich schließen, deren Entwickelung mit den stärksten Vergrößerungen zu jeder Zeit ermöglicht ist, da die Wände der Kammer nur die Dicke eines Deckglases besitzen. Brefeld war es auch, der zuerst eine Massenvegetation auf festem Nährboden durch Aussäen einer Zelle hervorbrachte und von hier aus wieder neue Substrate impfte, um ganze Generationen in ihren Eigenschaften verfolgen zu können. Auf diese Weise gelang es ihm, durch künst-

liche Kultur die Perithecien bei Penicillium zur Entwickelung zu bringen.

Kurz vor Brefeld hat Lister (2) bei seiner Untersuchung über Milchsäuregärung ein Verfahren zur Isolierung von Zellen angewandt, das darin bestand, in einem Bruchteile eines Tropfens, etwa $^1/_{50}$ desselben, die Anzahl der darin enthaltenen Keime festzustellen und daraus rechnungsgemäß eine entsprechende Verdünnung abzuleiten, so daß ein jeder Tropfen nur einen Keim fassen solle.

Aehnlich ging Nägeli (3) vor, indem er eine Reihe sterile Nährlösung enthaltender Kölbchen mit einer bestimmten Menge, etwa 0,5 ccm, der Verdünnungsflüssigkeit impfte, von der je 1 ccm einen Keim enthielt, wie durch Rechnung gefunden wurde, und daraus den Schluß zog, daß, wenn die Hälfte der Kölbchen steril blieb, die andere Hälfte aber infiziert war, in jedem der infizierten Kölbchen nun eine Reinzucht, aus einer Zelle stammend, entstanden sei.

Diese auf ziemlich große Wahrscheinlichkeit sich stützende Vermutung konnte erst dann, wenn auch nicht absolute Gewißheit, so doch fast sichere Bürgschaft geben, wenn, wie es nach der durch Hansen (4) angegebenen Umänderung geschehen muß, die infizierten Kölbchen nach vorherigem kräftigen Umschütteln der Ruhe überlassen bleiben, damit die Infektionskeime zu Boden fallen und sich zu Kolonieen entwickeln können, die als ein einheitliches Ganze mit dem Auge wahrgenommen werden. Die Kolben, in denen nur eine Kolonie sich gebildet hat, enthalten Reinkulturen.

Diese Methode kann überall da Anwendung finden, wo die Keime vermittelst ihrer Schwere zu Boden sinken, und wo ihre Vermehrung in geschlossenen Kolonieen stattfindet, so also bei Hefen. Hansen hat denn auch hiermit seine berühmten Hefen isoliert: Carlsberg N I, Pastorianus I, II, III, und Ellipsoideus I und II.

Pasteur (5) bediente sich einer eigenartigen Methode zur Erzielung von Reinkulturen, indem er eine äußerst feine Verdünnung von Hefen dadurch herstellte, daß er trockene Hefe, mit Gips gemischt, in der Luft zerstäubte und momentan mehrere mit sterilen Nährlösungen gefüllte, in eine enge Spitze ausgezogene und zugeschmolzene Glaskölbchen öffnete und sie sofort wieder verschloß. Durch Zufall konnte in irgend ein Kölbchen ein Keim gefallen sein. Sein Verfahren zur Reinigung und Reinzüchtung von Brauereihefen gründete er darauf, daß er annahm, die Brauereihefe wäre ein einheitlicher Organismus, die von allen anderen Beimischungen an Organismen dadurch zu reinigen sei, daß sie in Rohrzuckernährlösung, der eine Spur Weinsäure zugegeben werde, geimpt werde, wo sie ihre stärksten Individuen noch weiter kräftigt im Gegensatze zu den schwachen und Bakterienbeimengungen, die durch diese Kulturmethode zu Grunde gehen sollen. Wohl werden die Bakterien unterdrückt, aber die Hefe, die in der Brauerei gewöhnlich geführt und schon fast immer aus einigen Rassenmischungen besteht, erleidet eine solche Veränderung, daß, wie Hansen (6) nachgewiesen hat, die Krankheitshefen gegenüber den normalen die Ueberhand gewinnen, und damit wird der zu erreichende Zweck in sein Gegenteil umgewandelt

Die Versuche indes, von Bakterien Reinkulturen zu gewinnen, bewegten sich in einer ganz anderen Richtung. Feste Substrate dienten hier den Versuchen als Unterlage, wie zuerst Schröter (7) an Kartoffelscheiben beobachtete, die, der Luft ausgesetzt, an verschiedenen Stellen der Oberfläche an Form und Farbe unterschiedliche Kolonieen von Bakterien entstehen ließen. Planmäßig eine Reinzüchtung von Bakterien auszuführen, unternahm zuerst R. Koch (8), der das dadurch zu erreichen suchte, daß er mit einem mit Bakterien infizierten Platindrahte auf einer auf einen Objektträger ausgegossenen Platte von Nährgelatine (1 l Fleischwasser, 100 g Gelatine, 10 g Pepton, 5 g Kochsalz) hintereinander Striche einritzte, die, je weiter entfernt, um so weniger von dem Infektionsmateriale empfangen, so daß schließlich wohl im letzten Striche nur einige Keime haften bleiben, die einzeln zu räumlich getrennten Kolonieen auswachsen können. Diese unvollkommene Methode machte bald einer, jetzt noch vorteilhaft angewandten, besseren Platz, die als die „Plattenkultur-Methode“ allgemeine Verbreitung gefunden hat. Einige mit 1 ccm Nährgelatine gefüllte, sterile Reagenzgläser werden zur Verflüssigung der Gelatine erwärmt, und nach Abkühlung auf etwa 30° R wird eines derselben mit einer kleinen Platinöse der Bakterien- oder irgend einer anderen keimhaltigen Flüssigkeit geimpft. Nach kräftigem Umschütteln und Vermischen wird mit der ausgeglühten Platinöse ein Teil aus diesem Röhrchen entnommen und in ein zweites geimpft, von dem wieder ein drittes infiziert wird. Diese letztere Mischung hat im allgemeinen nun ausreichende Verdünnung und kann sonach auf die etwa 18 cm lange und 10 cm breite, im Trockenschranke in einer Blechkapsel bei 140°—150° R sterilisierte Glasplatte ausgegossen werden, doch so, daß der Rand in Fingerbreite frei bleibt. Die Glasplatte liegt auf einer großen, eine Schale mit Eis verschließenden und wagerecht eingestellten Glasplatte, die zum Schutze gegen einfallende Keime aus der Luft mit einer Glasglocke überdeckt ist.

Bei ausreichender Verdünnung und guter Durchmischung werden die Keime in der Gelatineschicht so gut verteilt sein, daß fast jeder einzelne Keim zu einer gesonderten Kolonie auswächst, doch fehlt es auch hier an der sicheren Feststellung, daß thatsächlich jede Kolonie auch nur aus einer Zelle entstanden ist.

Bei Versuchen mit Hefen, nach diesem Verfahren Reinkulturen zu gewinnen, hat Holm nachgewiesen, daß einige Kolonieen, die ein vollständig einheitliches Bild zeigten, nicht aus einer einzigen Rasse, sondern aus zwei bestanden, und daß auf diese Weise, durch Fusion, im Durchschnitte von 23 Kulturen aus 108 Zellen 100 Kolonieen gebildet wurden (9).

Somit zeigt auch diese Methode, für Hefen wenigstens, nicht unwesentliche Mängel. Bei Bakterien, die als sichtbare Kolonieen, namentlich an der Oberfläche der Gelatineschicht, betreffs Farbe und Größe und Gestalt so mannigfache, scharf hervortretende Unterschiede von einander besitzen, ist eine Erkennung von Verschmelzung zwischen zwei Kolonieen ziemlich leicht zu konstatieren. Ueberdies

ist dieses Verfahren bei den kleinsten Bakterien, die bei einer linearen Vergrößerung von 700—800 kaum noch als Individuen zu erkennen sind, das einzig und allein anzuwendende.

Petri (10) benutzte an Stelle der Platten flache, in einander fassende Schalen, deren sich auch Fischer und Brebeck (11) zur Darstellung von Reinkulturen von Kahmhefen bedienten, wobei sie sich durch mikroskopische Kontrolle, die von der Bodenseite des Schälchens leicht auszuführen ist, von der Entstehung aus einer Zelle vergewisserten.

Die Mängel dieser Koch'schen Plattenkultur hat Hansen (12) zu umgehen gewußt, indem er die Plattenkultur in die Hohlkammer verlegte, wo es vermittelst des Mikroskops ermöglicht ist, jeden einzelnen Keim zu übersehen und ihn während seiner Entwickelung zu beobachten. Die Verdünnung kann ähnlich der von Koch angewandten hergestellt werden, läßt sich aber auch in kleinerem Maßstabe auf einem sterilen Objektträger vollziehen, auf den einige Tropfen Nährlösung isoliert aufgetupft sind, indem erst ein Tropfen mit dem Materiale geimpft und von diesem auf einen anderen Tropfen und dritten übertragen wird. Von der weitgehendsten Verdünnung wird ein kleiner Tropfen auf die untere Seite des beim Durchziehen durch die Flamme steril gemachten Deckgläschens aufgetupft, die Kammer vorläufig verschlossen und der Tropfen auf die Anzahl seiner Zellen hin mikroskopisch durchsucht. Bei Gegenwart von 10 bis 30 Zellen darf die Verdünnung als gut angesehen werden, und der Tropfen wird alsdann mit einer Oese voll flüssiger Nährgelatine, die von gehopfter Würze und Gelatine hergestellt ist, auseinandergerührt, damit die Hefen recht weit von einander isoliert liegen, so daß sie bequem markiert werden können, was man teils mit der Feder bei einer linearen Vergrößerung von 100 machen kann, teils mit einem Objektmarkierer, der, in das Objektiv eingesetzt, beim Berühren des Deckgläschens auf dieses einen schwachen Kreis um die im Gesichtsfelde liegende Zelle drückt, teils auch mit in Quadrate eingeteilten Deckgläschen, wo jedes Quadrat mit einer Nummer bezeichnet ist, die man sich nur zu merken hat, falls eine Zelle allein innerhalb des von einem Quadrate begrenzten Raumes liegt, teils auch, wie Dr. Aderhold-Proskau (13) angiebt, dadurch, daß auf den Objekttisch ein weißer Karton von genau so kleiner Durchlochung als die kleinste Blende gelegt wird, und daß die Lage des Objektträgers auf diesem Karton, sobald im Gesichtsfelde eine einzige Zelle wahrzunehmen ist, durch Blei aufzuzeichnen und eventuell zu numerieren ist. Diese Methode bewährt sich vor allem dann recht gut, wenn in der Kammer sehr wenig Zellen, etwa bis 10, enthalten sind, was sich durch methodisch-rechnungsmäßige Verdünnung leicht erreichen läßt.

Van Laer (14) bedient sich zur Herstellung von Reinkulturen keiner Hohlkammer. Er benutzt einen gewöhnlichen flachen Objektträger und trägt auf diesen einen Tropfen der in Würzegelatine verrührten Verdünnung auf, die natürlich auch so hergestellt ist, daß der Tropfen nur wenige Zellen enthalten darf. Zur Abkühlung wird

der Objektträger in eine feuchte Kammer gelegt und der Tropfen, ehe vollständige Erstarrung der Gelatine eingetreten, mit einem dünnen, an einer Ecke in die Höhe gebogenen sterilisierten Glimmerplättchen bedeckt, das sich glatt auf die Gelatineschicht auflegt. Nach völligem Festwerden der Gelatine wird das Präparat mikroskopiert, und die einzelnen Zellen können markiert werden auf dem Glimmer, wobei als Vorzug der Umstand gelten kann, daß man den Tubus des Mikroskops nicht zu ändern nötig hat. Nach Ausbildung der Kolonieen werden entsprechend den Markierpunkten auf dem Glimmer ebenfalls unten auf der unteren Seite des Objektträgers die Zeichen angebracht. Das Plättchen wird nun vermittelst einer Pinzette an dem hochstehenden Eckzipfelchen abgehoben, und die Kolonieen lassen sich mit Leichtigkeit ausstechen.

Dieselbe Methode wandte schon Lindner (15) 1888 an bei der Herstellung von Sarcina-Reinkulturen. Auf Koch'sche Plattenkulturen legte er dünne Gipsblättchen, beobachtete die Entwickelung der Sarcina-Kolonieen und impfte nach dem Abheben des Gipsplättchens zur weiteren Züchtung in andere Nährlösung über.

Bei Herstellung von Reinkulturen aus Lagerbieren läßt sich die Lindner'sche (16) „Tröpfchenkultur" in der Hohlkammer am bequemsten verwenden, da man mit einer Feder, ohne das Bier überhaupt noch verdünnen zu müssen oder es mit Nährlösungen zu versetzen, auf der inneren Seite des Deckgläschens eine Anzahl kleiner Tröpfchen anbringen kann, die schnell durchsucht und auf ihren etwaigen Gehalt an Zellen geprüft werden können.

Man hat bei Faßbieren von über 14 Tagen in den seltensten Fällen mehr als eine Zelle in einem Tröpfchen, häufig gar keine und erzielt damit mühelos in einem Präparate mehrere Reinkulturen. Die sterilen Tröpfchen lassen sich vorteilhaft als Nährboden für eingeimpfte Hefen und Bakterien benutzen. Diese Tröpfchenmethode eignet sich auch vor allen anderen Methoden dazu, Bakterien, die unter dem Mikroskope deutlich erkennbar sind, als Sarcina, Bacterium termo, Milchsäure- und Buttersäurestäbchen, Essigsäurebakterien und andere mehr, von einer Zelle aus rein zu züchten, wozu das auch noch wesentlich beiträgt, daß diese kleinen Organismen vermöge der starken Lichtbrechung ihres Plasmas in den Tröpfchen viel leichter zu erkennen sind, als etwa in festen Nährsubstraten, wo sie fast gleiches Lichtbrechungsvermögen haben als letztere und somit dem Auge leicht entgehen.

Im Großen läßt sich die Tropfenkultur am besten in sterilen Petrischalen durchführen, wobei die Tropfen vermittelst einer kleinen, in Abschnitten von 0,1 zu 0,1 ccm eingeteilten Pipette sowohl auf der unteren als auch oberen Seite des Schalenpaares getupft werden und so stark verdünnt sein müssen, daß nicht mehr als eine Kolonie im Tropfen entstehen kann, die bei ruhiger Lage des Präparates als weißer, zusammenhängender Fleck mit bloßem Auge wahrnehmbar ist. Absolute Gewißheit für Erzielung von Reinkulturen bietet diese Tropfenmethode insofern nicht, als man nicht die Tropfen mit dem Mikroskope durchsuchen kann.

Aus der Hohlkammer werden die markierten Kolonieen mit einem ausgeglühten, kurzen Platindrahte ausgestochen, der, wenn es sich um die Tröpfchenkulturen handelt, vorn stumpf und mit seiner Spitze heiß in sterile Würzegelatine getaucht ist, um geringe Mengen hiervon aufzunehmen, die beim Eintauchen des Drahtes in eine Tröpfchenkolonie wie ein Klebstoff wirken, an den sich die einzelnen Hefenzellen leicht anheften; das Ausstechen kann man sich auch noch dadurch erleichtern, daß man auf die markierte Tröpfchenkolonie ein Tröpfchen flüssiger Nährgelatine auftupft und nach dem Erstarren derselben die Kolonie aushebt. Hierdurch kann die Uebertragung der Kolonie in Reagenzgläschen mit Nährgelatine als Strich- oder auch Stichkultur ohne Mühe vollzogen werden. Das Ausheben der Kolonieen aus der Hohlkammer-Gelatineschicht wird am besten mit einem spitzen Platindrahte vorgenommen.

Die Kulturen im Reagenzglase dienen als Ausgangsmaterial für weitere Züchtungen.

Litteratur.

1) Brefeld, Botanische Untersuchungen über Schimmelpilze. 1881. Heft 4. p. 1—35.
2) Lister, On the lactic fermentation and its bearing on pathology. (Transaction of the Pathological Society of London. 1878.)
3) Nägeli, Untersuchungen über niedrige Pilze. 1882. p. 13.
4) Hansen, Compte-rendu des travaux du laboratoire de Carlsberg. Vol. I. Livr. 4. p. 207.
5) Pasteur, Etudes sur la bière. 1876.
6) Hansen, Untersuchungen aus der Praxis der Gärungsindustrie. 1890. Heft 1. p. 6 und Heft 2.
7) Schröter, Cohn's Beiträge zur Biologie der Pflanzen. Bd. I. 1872. Heft 2.
8) Koch, Mitteilungen aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte. Bd. I. 1881. p. 27 und 1883.
9) Holm, Sur les méthodes de culture pure et spécialement sur la culture sur plaques de M. Koch et la limite des erreurs de cette méthode. (Tirage à part du Compte-rendu des travaux du laboratoire de Carlsberg. Vol. III. Livr. I. 1891. p. 15.)
10) Petri, Centralbl. f. Bakteriologie. Bd. I. 1887. No. 9.
11) Fischer und Brebeck, Zur Morphologie, Biologie und Systematik der Kahmpilze, der Monilia candida und des Soorerregers. 1894. p. 4.
12) Hansen, Compte-rendu du laboratoire de Carlsberg. 1883.
13) Untersuchungen über reine Hefen. (Landwirtschaftliche Jahrbücher. Teil III. 1894. Heft 4.)
14) Proceedings of the international Brewers' congress held in Brand's hall, in the city of Chicago, Ill. 1893. p. 67 u. 68.
15) P. Lindner, Sarcina-Organismen des Gärungsgewerbes. [Inaugural-Dissertation.] 1888.
16) Wochenschrift für Brauerei. No. 23. p. 697.

Referate.

Mouginet, Charles, Quelques bactéries des putrefactions. [Thèse.] Nancy 1894.

Mouginet isolierte mittels des Plattenverfahrens aus faulendem Fleische oder Eingeweide drei Bacillenarten, sämtlich verflüssigend und nach Gram färbbar, welche, wie er glaubt, dem Bacterium Termo der Autoren nahe stehen, sowie die drei Hauser'schen Proteusarten und giebt von sämtlichen Arten die genauen Kulturmerkmale. Dem Vorgange von Macé folgend, nennt er die letztgenannten Arten nicht Proteus, sondern Bacillus vulgaris, mirabilis und Zenkeri[1]). Er dürfte damit wohl wenig Anklang finden und nur Verwirrung stiften. Eingehender beschäftigt er sich mit den pathogenen Eigenschaften des Proteus vulgaris und mirabilis. Gelegentlich einer kleinen Dysenterieepidemie (Juni 1890) in der Dragonerkaserne von Nancy (die Epidemie soll alljährlich in denselben Quartieren wieder auftreten) gelang es ihm, im Fußbodenstaube eines dieser Zimmer und in unfiltriertem Moselwasser, welches wahrscheinlich den Soldaten öfters zum Trinken gedient hatte, den Proteus vulgaris nachzuweisen, desgleichen bei zwei von vier Fällen der unter dysenterischen Erscheinungen erkrankten Soldaten[2]). Was die Frage der Intoxikationen durch verdorbenes (faules) Fleisch anlangt, so weist Mouginet darauf hin, daß man unter Umständen entweder die gleichen Mikroorganismen oder die gleichen Ptomaïne in den Leichen der daran Gestorbenen und in dem verdorbenen Fleisch nachweisen kann, doch ist meist von letzterem leider nichts mehr zu erhalten. Er stellt dann aus der Litteratur eine ganze Anzahl von Fällen zusammen, in denen teils die chemische, teils die bakteriologische Untersuchung genügenden Aufschluß über die Ursache der Erkrankung lieferte. Als Schlußthesen seiner Arbeit stellt er folgende Sätze auf: 1) Die Bakterien, welche sich am Anfange der Fäulnis entwickeln, sind aërob und stehen dem alten „Bacterium Termo“ nahe. 2) In einem mehr vorgeschrittenen Stadium, d. h. gegen den dritten bis vierten Tag der Fäulnis, findet man fakultative Anaërobien. besonders den Bacillus vulgaris (Proteus vulgaris Hauser), 3) Dieser Bacillus vulgaris verursacht sicher eine große Zahl der Vergiftungen durch Eßwaren mittels der Ptomaïne, welche er erzeugt. 4) In der Pathogenese der Fleischvergiftungen muß man die Wirkung zweier Faktoren anerkennen: der Bakterien und der Ptomaine. Czaplewski (Königsberg i. Pr.).

1) Bekanntlich hat in neuerer Zeit Hauser selbst diese drei von ihm aufgestellten Arten zusammenwerfen wollen, da Uebergänge vorkämen. Ref. hat sich, nach seinen Beobachtungen an Kulturen, welche von Originalkulturen Hauser's stammten, und die er seinerzeit teils von Herrn Prof. Baumgarten, teils aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte erhalten hatte, davon nicht überzeugen können und hält alle drei für wohl charakterisierte Species, ist jedoch nach Parallelkulturen mit Abimpflingen von Originalkulturen des Proteus Zenkeri-Hauser und Bacterium Zopfi-Kurth geneigt, eine Identität zwischen den beiden letztgenannten zu vermuthen.

2) Da die Faeces nicht in sterilen Gefäßen aufgefangen waren, ist der Einwand möglich, daß der Proteus aus dem zum Spülen der Gefässe bestimmten Wasser hätte stammen können. Ref.

Nielsen, J. Chr., Sur le développement des spores du Saccharomyces membranaefaciens, du S. Ludwigii et du S. anomalus. (Comptes-rendus des travaux du laboratoire de Carlsberg. T. III. 3me livr. p. 176.)

Die Zeit ist hinter uns, in der man die einzelnen Hefearten nach der Form ihrer Zellen unterschied. Hansen hat uns inzwischen gelehrt, daß dieses Merkmal in vielen Fällen unzuverlässig ist, und daß man in erster Linie an physiologische Kennzeichen sich halten müsse, wie solche z. B. jene Bedingungen sind, unter denen die Bildung endogener Sporen sich einstellt. Er hat aber sofort davor gewarnt, abermals in den gleichen Fehler zu verfallen und wieder nur an dieses eine, neue Merkmal sich zu halten. Vielmehr, empfahl er, bei der Beurteilung und Artbestimmung der Saccharomyceten auch andere Momente heranzuziehen, z. B. das Verhalten gegen die Zuckerarten, die Hautbildung, die Art der Sporenkeimung u. s. f.

Daß die bloße Ermittelung der Fixpunkte der Temperatur-Zeit-Kurve der Sporenbildung nicht genügt, sondern das Zusammenfassen aller Merkmale nötig ist — wird sehr schön dargethan durch die nun zu besprechende Abhandlung von H. Nielsen. Sie betrifft drei sehr interessante, von Emil Ch. Hansen in die Litteratur eingeführte Saccharomyceten, nämlich

den S. membranaefaciens[1]),
den S. Ludwigii[2]) und
den S. anomalus[3]).

Die darin mitgeteilten Zahlen über den Zusammenhang zwischen der Temperatur und der Zeitdauer der Sporenbildung bei diesen drei daraufhin bisher noch nicht untersuchten Arten sind zu der nachstehenden Tabelle vereinigt worden:

Die erste Sporenanlage war zu bemerken bei °C	S. membranaefaciens	S. Ludwigii	S. anomalus
	nach Stunden bez. Tagen		
35	ausbleibend	—	—
34	—	ausbleibend	ausbleibend
33½—33	19—21 h	—	—
32½—32	18	19—21 h	19—21 h
31—30½	17—18	18—20	18—19
30	17—18	18—19	17—19
28	17¼—18	19—20	17½—19
25	17¼—17 h	20—21 h	18—20 h
8½—7½	4½—5 d	7—8 d	7 d
7½—6	6—7 d	13—14 d	13—14 d
3—2½	ausbleibend	ausbleibend	ausbleibend

Man wird aus ihr entnehmen, daß hinsichtlich der Zeitdauer, die bis zum Auftreten bemerkbarer Sporenanlagen verstreicht, inner-

1) Dieses Centralblatt Bd. IV. 1888. p. 390.
2) Desgl. Bd. V. 1889. p. 632.
3) Desgl. Bd. IX. 1891. p. 663.

halb der Temperaturgrenzen von 34 bis 25° zwischen den drei Arten hinreichend große, praktisch verwertbare Unterschiede nicht obwalten. Anders liegen die Verhältnisse bei niedriger Temperatur, zwischen 6 und $8^1/_2$°; hier ist S. membranaefaciens von den beiden anderen wohl zu unterscheiden, denn bei ihm tritt die Sporenbildung um eine ganze Woche früher ein.

Hingegen ist es völlig unmöglich, den S. Ludwigii vom S. anomalus mit Hilfe der Sporenkultur zu unterscheiden. Bei diesen tritt die Nötigung ein, zu anderen Unterscheidungsmerkmalen zu greifen; es ist daran glücklicherweise kein Mangel.

Eine Bemerkung, welche durch das Ergebnis einer einschlägigen Untersuchung von Jul. Koehler[1]) hervorgerufen wurde, giebt zugleich Gelegenheit, von dem Verf. einen dankenswerten, die Methodik der Sporenkultur betreffenden Wink zu empfangen. Wie bekannt, besteht das Wesen dieses Verfahrens darin, die auf ihre Fixpunkte zu untersuchende Hefe in Bierwürze überzuimpfen, durch 24 Stunden bei 26° C zu belassen und hierauf von dem derart entstandenen Bodensatz junger, lebenskräftiger Zellen ein wenig auf eine feuchte Unterlage aufzustreichen und unter Luftzutritt bei der gewünschten Temperatur zu halten. Hansen hat hierzu die schon von Engel benutzten Gipsblöcke empfohlen. Man sollte nun meinen, die Art der Unterlage sei ohne Einfluß auf die Genauigkeit des Resultates, vorausgesetzt nur Gegenwart von Feuchtigkeit und Zutritt von Luft. Von dieser Ansicht ausgehend, hat man versucht, an Stelle der etwas schwierig zu behandelnden Blöcke aus Gips solche aus festerem Materiale zu verwenden. H. Elion hat[2]) Würfel aus Thon, H. Wichmann hingegen[3]) Chamotteblöcke empfohlen. Nun hatte J. Koehler gelegentlich seiner Studien über S. membranaefaciens, die letztgenannte Unterlage benutzend, auch einige Fixpunkte für dessen Sporenbildung bestimmt, nämlich 41 Stunden für 25° C und 10 Tage für 9° C. Diese beiden Zeitangaben sind, wie ein Vergleich mit obenstehender Tabelle ersehen läßt, viel höher, als wie sie Nielsen gefunden hat. Dieser veranlaßte nun seinen Kollegen H. Klöcker, die Kontrolle zu übernehmen. Bei dieser stellte sich dann, in Bestätigung ähnlicher früherer Versuche des letzteren mit mehreren anderen Hefen, heraus, daß die Sporenbildung auf der Chamotteunterlage beträchtliche Verzögerung erleidet. Die diesbezüglich gewonnenen Ergebnisse zusammenfassend, kann man sagen: Es ist kein Grund vorhanden, die Gipsblöcke aufzugeben.

Lafar (Hohenheim bei Stuttgart).

Chudiakow, N. v., Untersuchungen über die alkoholische Gärung. (Landwirtschaftl. Jahrbücher. Bd. XXIII. 1894. Heft 2 u. 3. p. 391—534. 5 Taf.) [Schluß.]

Damit gelangt Verf. dann zu seinen eigenen Versuchen. Da unter übrigens ganz gleichen Umständen die innerhalb der Zeitein-

1) Desgl. Bd. XIII. 1893. p. 131.
2) Desgl. Bd. XIII. 1893. p. 749.
3) Desgl. Bd. XIV. 1893. p. 62.

heit produzierte Kohlensäuremenge von der Zahl der Hefezellen abhängig, folgert derselbe aus dem Gange der Aenderung jener umgekehrt auf die Zahländerung dieser und zwar mittels der oben angegebenen Kohlensäurebestimmungsapparate. Zu den Versuchen dienten 10-proz. Lösungen von Rohr- oder Stärkezucker — deren Freisein von Verunreinigungen Verf. vorauszusetzen scheint — in destilliertem Wasser. Die mit kleineren Hefemengen angestellten ergaben überstimmend nun, daß die anfangs ziemlich intensive Gärthätigkeit allmählich aufhört, jedenfalls nach 6—7 Stunden sehr geringe Werte annimmt. Als Erklärung für den Versuchsausfall bestanden zwei Möglichkeiten. Entweder ist die Gärung in reinem Zuckerwasser unmöglich, oder es findet hier ein in der abnehmenden Kohlensäureproduktion zum Ausdruck kommendes Absterben der Zellen statt. Schließlich könnte auch die dauernde Wirkung des eingeleiteten Sauerstoffs mit in Frage kommen. Verf. entscheidet sich für die zweite Möglichkeit und glaubt dieselbe dadurch erwiesen, daß auf späteren Peptonzusatz zunächst nur geringe Kohlensäurewerte erhalten werden; allerdings hält er die Erklärung für nur zum Teil ausreichend — bei kürzerer Versuchsdauer kehrte nach Peptonzusatz die Gärung in ursprünglicher Stärke wieder — und dem darf man wohl beistimmen, da nach bisherigen Erfahrungen weder Hefe in Zuckerlösung abstirbt, noch auch hierfür vom Verf. der Beweis versucht wurde, obschon derselbe mit dieser Thatsache weiterhin rechnet. Anderenfalls müßte die vom Verf. benutzte Hefe sich abweichend verhalten, was im ganzen weniger wahrscheinlich; wahrscheinlicher ist wohl die Annahme, daß der Stoffumsatz innerhalb der Zelle unter solchen Umständen — und somit auch die Kohlensäureproduktion — temporär zurückging (aufgezwungenes Ruhestadium, Hungerzustand), worauf auch die späterhin (bei Peptonzugabe) regelmäßig wieder successiv steigenden Kohlensäurewerte deuten.

Versuche mit größeren Hefequantitäten (ähnlich wie die Pasteur'schen) ergaben zunächst gleichfalls abnehmende Kohlensäureentbindung, aber nach 4—5 Stunden bereits wieder sich allmählich steigernde Zunahme, und Verf. deutet das Resultat auch hier durch das zunächst überwiegende Absterben, dessen Produkte dann weiterhin dem Fortgange des Gärprozesses zu gute kommen. Somit hätten wir auch hier nach Verf. Absterben in bloßer Zuckerlösung (Grund dafür?), aber dann Weiterleben (Vermehrung) eines Teils der Hefe auf Kosten des absterbenden Teils — gerade wie vorher auf Kosten des späteren Peptonzusatzes. Bei einer gewissen sehr geringen Menge von Hefe soll somit die Vergärung in reinem Zuckerwasser unmöglich werden, weil die Hauptmasse derselben unter diesen Bedingungen nicht imstande sein wird, sich lebend zu erhalten. Weitere Versuche, die bei verschiedenen Temperaturen, übrigens aber wie die vorhergehenden angestellt wurden, lassen Verf. dann schließen, daß die Schnelligkeit, mit der das Absterben und die Hemmung der Gärthätigkeit in reinem Zuckerwasser fortschreiten, bei höheren Wärmegraden (bis 40° C) merklich schneller verläuft.

Ziehen wir ein selbständiges, rein sachliches Facit aus diesem Kapitel, so haben wir somit in reiner Zuckerlösung eine durch Wärmezufuhr beschleunigte allmähliche Abnahme der Kohlensäureentbindung, die bei Schluß der 6—7-stündigen Versuchsdauer auf relativ geringe Werte sinkt, und durch Peptonzusatz wieder gesteigert werden kann. Bei Verwendung größerer Hefemengen ist die Depression in der Kohlensäureentbindung weniger bedeutend und repariert sich zum guten Teil von selbst. Inwieweit hierauf die weiteren am Schlusse des Kapitels noch einmal formulierten Folgerungen des Verf.s zutreffen, bleibe dahingestellt; immerhin dürften sie wohl nicht jedem annehmbar erscheinen.

Ueber die Einwirkung des Sauerstoffs auf die Gärung.

Den eigenen Versuchen geht wieder eine ausführliche historisch-kritische Darlegung voraus, welche sich insbesondere mit den Arbeiten Pasteur's, Nägeli's, Brefeld's beschäftigt, und die in folgendem kurz skizziert sein mag.

Die Pasteur'sche Gärungstheorie, welche die Zertrümmerung des Zuckers als Folge des seinem Molekül entzogenen Sauerstoffs darstellt (Gleichgewichtsstörung), fordert als unerläßliche Bedingung für ihre Berechtigung eine hemmende Wirkung des freien Sauerstoffes auf die Gärthätigkeit. Sie wie die Brefeld'sche Auffassung, welche in der Entziehung von Sauerstoff direkt den Prozeß der Alkoholbildung sieht, leidet an dem Vorwurfe der Einseitigkeit, und dementsprechend modifizierte auch ersterer späterhin die anfängliche Definition und läßt die Sauerstoffentziehung fallen. Trotzdem wird auch hier noch die Abwesenheit von Sauerstoff als Bedingung für das Stattfinden des Gärungsprozesses gefordert, denn bei Gegenwart desselben soll keine Gärung möglich sein. Pasteur hat aber sichere Beweise hierfür nicht geliefert, da ein einziger bezüglicher Versuch von Nägeli sogar in entgegengesetztem Sinne gedeutet werden konnte. Dumas teilte dann auch mit, daß in seinen Untersuchungen ein nachteiliger Einfluß des genannten Gases nicht nachweisbar, und ähnliches zeigten Ad. Mayer, Schützenberger, Béchamp u. A. Nägeli fand sogar eine begüntigende Wirkung desselben, um daraufhin unter Verwerfung der Pasteur'schen eine abweichende Gärungstheorie aufzustellen. Die experimentelle Begründung der Nägeli'schen Theorie wird dann weiterhin vom Verf. genauer geprüft und das Beweisende derselben in Frage gestellt. Insbesondere stehen die Nägeli'schen Gärversuche in ihren Resultaten in Widerspruch mit den Erfahrungen des Verf.'s, so daß derselbe nunmehr zur Erörterung der Frage der Sauerstoffwirkung zunächst auf Gärung reiner Zuckerlösungen übergeht.

Die bei Sauerstoffzutritt ausgeführten Versuche ergaben demselben eine unzweideutige Hemmung der Gärung, indem die Kohlensäureproduktion nach einigen Stunden auf geringe Werte zurückging. Während Verf. diese Erscheinung aber vorher ohne eigentlich bestehenden Zwang auf ein Absterben der Hefezellen zurückführte, begegnen wir hier der immerhin auffallenden Thatsache, daß dieselbe nunmehr nicht für ein Absterben, sondern für eine Gärungs-

hemmung (durch den Sauerstoff) gedeutet wird, trotzdem ein Unterschied kaum sichtbar ist. Für die jetzige Auffassung macht derselbe die Versuchsresultate geltend, welche bei Durchleiten von Wasserstoff erhalten wurden, wo allerdings längere Zeit hindurch Kohlensäurekonstanz eintrat; damit scheint aber die frühere Deutung doch widerlegt. Andererseits führt derselbe aber auch hier wieder die schließlich stattfindende Kohlensäureabnahme auf das Absterben von Hefezellen zurück, so daß man diesen Deduktionen nur mit Vorsicht folgen darf. Aus den bezüglichen Zahlen ergiebt sich die Folgerung des Verf.'s daß der Luftzutritt auf die Gesamtproduktion der Kohlensäure hemmend wirkte, da so nur ungefähr innerhalb zweier Tage ein Viertel des Gases von dem bei Luftabschluß gebildeten erhalten wurde, und auch die Alkoholbestimmung dementsprechende Werte aufwies. Es ist das das Gegenteil von dem, was Nägeli annahm.

Im Anschluß hieran erörtert Verf. die etwaige Bedeutung der Nährlösungszusammensetzung für das Resultat, wie solche auch schon von Ad. Mayer — der den Sauerstoff in allen Fällen als indifferent oder nur mäßig schädigend fand — diskutiert wurde. Diese Versuche erscheinen demselben aber wenig einwurfsfrei und nicht beweiskräftig. Hier läßt sich freilich die Bemerkung nicht ganz unterdrücken, daß Verf. seine bisweilen billige und etwas breite Kritik vorzugsweise gegen fremde Arbeiten zu richten geneigt ist.

Aus der ersten Reihe der angestellten Versuche (Knopp'sche Nährlösung, 10 Proz. Zucker) ergab sich wiederum starkes Nachlassen der Kohlensäureentbindung bei Sauerstoffzutritt, dagegen ziemliches Konstantbleiben in einer Wasserstoffatmosphäre (während 9—11 Stunden).

Bei bloßer Steigerung der Ammoniaksalzmenge auf annähernd das 10-fache (zweite Versuchsreihe) war das Verhalten im Wasserstoffstrome wie vorher, bei Luftzutritt fand jedoch eine weit schnellere Hemmung der Gasentbindung statt, so daß Ammonnitrat entschieden ungünstig auf die Gärung bei Sauerstoffzutritt wirkt. Günstiger wirkte schon (nächste Versuchsreihe) weinsaures Ammon, aber alle diese Salze sind in der gewählten Konzentration der Hefevermehrung nicht gerade günstig. Wurden die Versuche nun in geeigneteren Nährflüssigkeiten, wie solche zahlreich beschrieben sind, angestellt, so ergaben sich da verschiedene Resultate, welche hier aber nur ganz kurz gestreift werden können. In Nährlösungen von Ad. Mayer, Laurent, Pasteur und Nägeli ergab sich ein dem vorigen prinzipiell ähnliches Resultat, doch war hier der Sauerstoff weniger hemmend, so daß die Kohlensäureentbindung langsamer zurückging. Anders gestaltete sich die Sachlage hingegen bei Verwendung von Bierwürze oder Zuckerpepton, also solchen Flüssigkeiten, die im Gegensatze zu den vorher genannten den Stickstoff teilweise oder ganz in der Form eiweißartiger Stoffe bieten. Hier hob sich alsbald die Kohlensäureproduktion auf mehr als das 10-fache (innerhalb 24 Stunden) auch bei Luftdurchleiten und es zeigt sich kein merklicher Unterschied gegen die im Wasserstoffstrome angestellten Versuche. Bei Eiweißnahrung

(neben Zucker) ist somit der Sauerstoff für die Gärung indifferent; Vergärung des Substrats findet in jedem Falle statt.[1])

Als Facit zieht Verf. dann den Schluß, daß die Wirkung des Sauerstoffs auf die Vergärung von den Ernährungsbedingungen abhängt, im allgemeinen also um so weniger stört, je günstiger diese sind, und schließt daran eine spezielle Erörterung der Nägeli'schen Theorie, welche von einer etwas abweichenden Annahme — Begünstigung durch Sauerstoff — ausging. Ebenso würde damit die Grundlage der Pasteur'schen Theorie unannehmbar.

Vielleicht wäre an diesem Orte eine etwas präcisere Diskussion der gesamten Versuchsergebnisse am Platze gewesen, wie sie sich nach Meinung des Referenten in wenigen Sätzen zusammenfassen ließ: Luftzutritt wirkt nach allem zunächst nur dann hemmend auf die Kohlensäureentbindung, wenn offenbar minderwertige Substrate zur Verwendung kommen. In solchen ist aber notorisch die Vermehrung der Hefe stark beeinträchtigt, woraus sich mit Wahrscheinlichkeit schon ein wachsender Gasausfall erklärt. Wenn derselbe nun durch Absperrung des Sauerstoffs und Wasserstoffeinleiten merklich repariert wird, so brauchen wir da nicht notwendig an eine direkte Beeinflussung der Hefe — wie Verf. doch wohl will — zu denken, sondern es würde sich fragen, inwieweit gerade diese Abänderung auf die Nährfähigkeit der Flüssigkeit (somit also auch auf die Vermehrung) einwirkt — also vielleicht Reaktionsänderungen, chemische Umwandlungen schafft. In diesem Sinne könnte der Ausfall der Experimente — gegenüber den Deutungen des Verf.'s — gleichfalls sehr wohl begriffen werden, obschon Verf. in eine bezügliche Diskussion nicht eintritt. Es bleibt ja immerhin ziemlich auffallend und unerklärt, daß der unter normalen Verhältnissen (bei Eiweißstickstoff) indifferente Sauerstoff unter anderen Umständen direkt störend auf die Lebensthätigkeit wirken soll, und kommt man darüber auch durch die wissenschaftlichsten Auseinandersetzungen nicht ganz weg. Im ganzen kann man sich aber des Eindrucks nicht erwehren, daß dem Verf. das eingangs scharf betonte Auseinanderhalten von Vermehrung und Gärthätigkeit späterhin nur unvollkommen gelingt; es ist auch vielleicht nur theoretisch und für den vorliegenden Fall nicht praktisch möglich, wie ein mikroskopischer Verfolg der Experimente wohl dargethan haben würde. Fördernde Arbeiten in der gesamten hier behandelten Richtung sind nach Meinung des Ref. auf eine von der bisherigen etwas abweichende Grundlage zu stellen, und können wohl der gleichzeitigen Berücksichtigung ähnlicher Prozesse kaum entbehren, insbesondere dürfte auch das Zurücktreten abstrakter Ausführungen gegenüber präciser Versuchsanordnung und Fragstellung vorteilhaft werden.

---

1) Belanglosigkeit des Sauerstoffs für den Gärungsprozeß, dagegen seine günstige Wirkung auf die Hefevermehrung wurde übrigens auch neuerdings noch von Iwanowitsch (Arb. d. bot. Labor. Acad. Petersbg. 1893. No. 4) ausgesprochen; im Allgemeinen berücksichtigt Verf. die neuere Litteratur (Arbeiten von van Laer, Brown, Delbrück u. a.) aber weniger.

Vermehrung der Hefe bei Gegenwart und Abwesenheit von Sauerstoff.

Nach Nägeli und Ad. Mayer ist Sauerstoff für die Vermehrung um so weniger notwendig, je günstiger die sonstigen Ernährungsbedingungen sind; diese Thatsache würde das Gegenteil von dem vom Verf. für die Gärthätigkeit gefundenen sein. Derselbe unterwirft in Hinblick auf die seines Erachtens nicht einwurfsfreien bisherigen Versuche die Frage einer erneuten Prüfung, wozu eine Reihe verschiedener Nährlösungen wechselnder Güte Verwendung finden; die hier mit Reinkulturen beschickten Gefäße waren teilweise mit Wattepfropf in üblicher Weise verschlossen, teilweise wurde die Luft durch Wasserstoff verdrängt; der Effekt wurde mit dem Augenmaße abgeschätzt. Auf diese Weise ergab sich, daß die Vermehrung durch den Sauerstoff begünstigt werden soll, wenigstens in Nährlösungen ohne Eiweißstickstoff; in solchen mit Peptonen etc. war zunächst ziemliche Uebereinstimmung, dagegen am 2. Tage ließ sich gleichfalls das nämliche Resultat (also Begünstigung durch Sauerstoff) konstatieren, eine Thatsache, die vom Verf. hier aber nicht auf den Einfluß des Sauerstoffs, sondern auf die andernfalls erfolgende Anhäufung von Gärprodukten zurückgeführt wird. Uebrigens mißt Verf. in einigen spezielleren Versuchen noch die Vermehrung, wie oben den Wasserstoffeinfluß, durch die Kohlensäurezahlen, und betont an dieser Stelle dann auch die Wirkung des sich ansammelnden Alkohols.

Endgiltig faßt derselbe die in diesem Kapitel gewonnenen Resultate dahin zusammen, daß in schlechtnährenden Medien Sauerstoff für die Vermehrung notwendig, in andern dagegen irrelevant ist. Das steht dann mit dem von Nägeli und Ad. Mayer Gefundenen in Einklang. Ueberall, wo solcher zur Vermehrung notwendig erscheint, trat er oben als Hemmung der Gärung auf, während da, wo er entbehrt werden kann, die Gärung durch ihn nicht beeinflußt wird.. Die sich daran schließende, im ganzen weniger plausible hypothetische Erklärung darf hier füglich übergangen werden.

Einfluß der Temperatur auf die Gärung.

Eingangs weist Verf. noch einmal darauf hin, daß die heute allgemein verbreitete Ansicht, die „Gärung“ habe im Gegensatze zur Atmung ein ausgesprochenes Optimum, nicht erwiesen sei, und kommt noch einmal auf das Verhältnis von Gärung und Vermehrung zurück. Wir möchten jedoch zur Erwägung anheim geben, ob es sich da nicht um einen bloßen Wortstreit handelt und genau genommen Verf. eine Bezeichnung nicht einwurfsfrei interpretiert, man muß sich da Entstehung und Sinn des Wortes „Gärung“ klar machen. Das Optimum der Gärung einer Zuckerlösung liegt nun ganz richtig, entsprechend den bisherigen Angaben, bei 28—31° C, denn bei dieser Temperatur findet eben die intensivste und schnellste Umwandlung in eine alkoholische Flüssigkeit durch die sie vergärende Hefe statt. Daran kann keine Auseinandersetzung etwas ändern, und es ist weniger von Belang, ob hierbei gerade diese besondere Temperatur

oder die unter solchen Verhältnissen ergiebigere Hefevermehrung — worauf auch schon Müller-Thurgau hinwies — beteiligt ist. Ob nun da auch gerade die Gärthätigkeit, also die Leistung der einzelnen Zelle (aber nicht die Gärung, denn das ist doch wohl ihre Wirkung) ihr Maximum erreicht, ist ein ander Ding, das jedenfalls nur irrigerweise mit dem Obigen zusammengeworfen wurde, denn jenes Optimum gilt für die durch die Hefe veranlaßte Gärung der Flüssigkeit und nicht für eine „Gärung der Hefe". Verf. sucht also das Gärvermögen der Zelle bei einer von dem Optimum der alkoholischen Gärung abweichenden Temperatur.

Um den Einfluß der Wärme auf jenes zu bestimmen, bedarf derselbe notwendig für alle seine vergleichenden Versuche derselben Zahl von Individuen. Nun ändert sich aber diese selbst da, wo sie anfangs vorhanden, sehr schnell, indem eben bei 25 ° die Vermehrung am ergiebigsten ist und hier also voraussichtlich auch die größten absoluten Gasmengen produziert werden. Es muß also die Vermehrung ganz ausgeschlossen werden; dabei ergeben sich aber mancherlei Schwierigkeiten.

Mit dem im Originale genauer beschriebenen Apparate wurde alsdann eine Reihe von Versuchen mit je 15 ccm in Wasser zerteilter Hefe und verschiedenen Nährlösungen angestellt. Bei Verwendung von reinem Zuckerwasser ergab sich zunächst das Kohlensäuremaximum bei 30 ° C. Dies Optimum scheint Verf. aber nicht ohne weiteres annehmbar, denn nach seiner Meinung kann dasselbe ebenso gut bei 40 ° C liegen, da das früher erwähnte supponierte beschleunigte Absterben bei wachsender Temperatur mit in Anschlag zu bringen ist, und das erscheint ihm nach weiteren bezüglichen Deduktionen auch wahrscheinlicher. Hier werden insbesondere noch die unter Sauerstoffabschluß angestellten Experimente herangezogen, weiterhin vor allem aber die mit Zuckeramonnitratnährlösungen, deren allgemeines Verhalten bereits oben studiert war. Auf dieses und weiteres kann hier im einzelnen nicht eingegangen werden, so daß wir uns begnügen, den Schlußfolgerungen zu folgen.

Bei kürzerer Versuchsdauer, insbesondere in einer Wasserstoffatmosphäre, zeigte sich eine merkbare Verschiebung des Kohlensäuremaximums nach oben (35—40 ° C), so daß hiernach eine optimale Temperatur für die Gärungsintensität nicht zu existieren scheint, vielmehr solche nach Verf. wie auch die der Atmung mit der Wärme fortwährend steigt, obschon längeres Einwirken der Temperatur von 40 ° C auch hier andauernde Hemmung bewirkte; es wird aber dadurch nach der Erklärung des Verf.'s die Lebensfähigkeit der Zellen beeinflußt. Somit resultiert auch dieser Schluß nicht, ohne daß der Deutung der Resultate ein gewisser Zwang angethan wird, denn vielleicht könnte man mit ähnlichem Rechte andere Folgerungen ziehen. Uebrigens stände die Thatsache nach Verf. mit ähnlichen für die intramolekulare und normale Atmung gefundenen in Analogie, und wir wollen sie auch nicht etwa direkt von der Hand weisen. Man vermißt übrigens eine Erwägung über den Einfluß, den ein so plötzliches Hinaufgehen der Temperatur (40 ° C) auf das Befinden von bei Zimmertemperatur gezogener

Hefe haben kann. Nach weiteren Versuchen soll sich dann gleichfalls fast sicher behaupten lassen, daß die Gärthätigkeit mit der Temperaturerhöhung bis zur Tötung steigt, wobei Sauerstoffan- oder -abwesenheit ohne Belang ist.

Ueber die intramolekulare Atmung der Hefe.

Nach den bisherigen Angaben (Pasteur, Liebig, Ad. Mayer, Bechamp u. A.) sollte die intramolekulare Atmung der Hefe unabhängig von der Qualität des gebotenen Nährstoffs sein, und Wilson drückte das Verhältnis der Sauerstoffatmung zu ihr durch einen bestimmten Quotienten aus. Verf. kommt für eine Reihe von Substraten (Milchzucker, Glycerin, Chinasäure) zu dem Resultate, daß hier eine nennenswerte bezügliche Fähigkeit nicht stattfindet, also die Möglichkeit der Atmung bei Sauerstoffmangel an das Vorhandensein von Dextrose gebunden ist, woraus sich das Zusammenfallen mit der Gärung ergäbe. Die gelegentlich beobachteten geringeren Kohlensäuremengen führt derselbe auf das Mitwirken von Bakterien bezw. noch in den Zellen vorhandenen Zucker zurück, und Aehnliches mag nach ihm bei den zu abweichenden Resultaten geführten Untersuchungen anderer mitgewirkt haben. Zwischen intramolekularer Atmung und Gärung auch bei anderen Pilzformen existiert augenscheinlich eine scharfe Grenze nicht. Nur der Traubenzucker ermöglicht ein Weiterleben der Hefe bei Mangel von Sauerstoff, denn temporärer Abschluß dieses in anderen Substraten hat ein starkes Herabgehen der Kohlensäureentwickelung zur Folge — nach Verf. wieder eine Folge des Absterbens, dessen Grund auf die unter solchen Umständen bestehende Unmöglichkeit der intramolekularen Atmung zurückgeführt wird. Die Hefe soll somit weit empfindlicher gegen Sauerstoffmangel sein (bei Fehlen von Zucker) als gewisse Mycelpilze, trotzdem sie unter anderen Umständen ausgesprochen anaërob ist.

Inwieweit man mit den — nicht immer einwandsfreien — subjektiven Deutungen und Folgerungen der gesamten Arbeit übereinstimmen darf, wurde an den bezüglichen Stellen bereits angedeutet und soll hier nicht des weiteren ausgeführt werden. Immerhin liegt in den zahlreichen genaueren experimentellen Ermittelungen ein Material vor, dessen Verwertung auch späterhin noch von Nutzen sein wird, sobald die eine oder andere der hier diskutierten Fragen von neuem einer Erörterung teilhaftig wird. Bezüglich des Textes läßt sich freilich kaum die Bemerkung unterdrücken, daß derselbe auf Grund seines Umfanges und der den verschiedenen Fragen gewidmeten Breite nur Vereinzelten annehmbar erscheinen dürfte, wodurch sich übrigens der Umfang auch des Referats motivieren ließe.

Wehmer (Hannover).

Fischer, Emil, Einfluß der Konfiguration auf die Wirkung der Enzyme. (Berichte der deutschen chem. Ges. XXVII. 2985.)

Das verschiedene Verhalten der stereoisomeren Hexosen gegen Hefe hat Emil Fischer und Thierfelder (s. o.) zu der Hypo-

these geführt, daß die aktiven chemischen Agentien der Hefezelle nur in diejenigen Zucker eingreifen können, mit denen sie eine verwandte Konfiguration besitzen. Diese stereochemische Auffassung des Gärprozesses mußte an Wahrscheinlichkeit gewinnen, wenn es möglich war, ähnliche Verschiedenheiten auch bei den vom Organismus abtrennbaren Fermenten, den sog. Enzymen, festzustellen. Das ist nun in unzweideutiger Weise zunächst für zwei glukosidspaltende Enzyme, das Invertin und das Emulsin, gelungen. Das Mittel dazu boten die künstlichen Glukoside, welche nach dem vom Verf. aufgefundenen Verfahren aus den verschiedenen Zuckern und den Alkoholen in großer Anzahl bereitet werden können. Zum Vergleiche wurden aber auch mehrere natürliche Produkte der aromatischen Reihe und ebenso einige Polysaccharide, welche Verf. als Glukoside der Zucker selbst betrachtet, in den Kreis der Untersuchung gezogen. Das Ergebnis derselben gipfelt in dem Satze, daß die Wirkung der beiden Enzyme in auffallender Weise von der Konfiguration des Glukosidmoleküls abhängig ist.

Bei der Einwirkung des Invertins, welches in Form eines wässerigen Auszuges aus Bierhefe zur Anwendung gelangte, stellte sich heraus, daß von den zwei stereoisomeren Glukosiden des Methylalkohols nur das eine, vom Verf. als α-Methylglukosid bezeichnete, gespalten wird, während das β-Methylglukosid unter denselben Bedingungen unverändert blieb. — Das krystallisierte Aethylglukosid verhält sich gegen Invertin wie die α-Methylverbindung und gehört also offenbar zur α-Reihe. Benzyl- und Glyceringlukosid, welche bisher nicht krystallisiert erhalten wurden und wahrscheinlich Gemische der α- und β-Verbindung darstellen, wurden nur unvollständig gespalten. Alle übrigen bisher bekannten Alkoholglukoside, welche sich von anderen Zuckerarten ableiten, wurden von der Enzymlösung gar nicht angegriffen. Besonderes Interesse schien Verf. die Prüfung eines Derivates der l-Glukose darzubieten. Das in derselben Weise wie das α-Methylderivat des Traubenzuckers dargestellte Methyl-l-Glukosid, welches indessen nicht in krystallisiertem Zustande erhalten wurde, blieb gänzlich unverändert.

Die Invertinlösung erwies sich ferner wirksam gegen Maltose, welche fast ebenso rasch wie die Alkoholglukoside in Traubenzucker gespalten wurde, aber unwirksam gegen Milchzucker. Das verschiedene Verhalten von Milchzucker und Maltose gegen das Invertin betrachtet Verf. wieder als eine Folge ihrer abweichenden Konfiguration. — Inulin und Stärke als Stärkekleister werden durch die Invertinlösung nicht verändert. Aromatische Glukoside, wie Salicin, Coniferin, Phloridzin und das von Michael künstlich dargestellte Phenolglukosid werden von Invertinlösung nicht angegriffen; dagegen wird aus dem Amygdalin mit Leichtigkeit Traubenzucker abgespalten, aber nicht Blausäure und Bittermandelöl. Der Vorgang ist daher ganz anders als bei der Emulsinwirkung und bis jetzt ohne Analogie. Verf., welcher vermutet, daß von den beiden Molekülen Traubenzucker, welche im Amygdalin vielleicht als Maltose enthalten sind, nur die Hälfte durch Invertin herausgelöst wird, will den Vorgang weiter verfolgen. Er experimen-

tierte bei seinen Versuchen mit Invertinlösung aus Saccharomyces cerevisiae Typus Frohberg und Typus Saaz. Ein Unterschied in der Wirkung wurde nicht konstatiert. Dagegen darf man erwarten, daß die Saccharomyces-Arten, welche Maltose nicht vergären, wie S. exiguus, Ludwigii oder apiculatus, auch kein glukosidspaltendes Enzym bereiten. Für die Milchzuckerhefe ist die Richtigkeit dieser Annahme bereits erwiesen. Zu bemerken ist, daß käufliches Invertin sich anders verhält als frisch bereitete Invertinlösung; denn ein von E. Merck in Darmstadt bezogenes Präparat zeigte zwar noch eine ziemlich kräftige Wirkung auf Rohrzucker, ließ aber das α-Methyl-Glukosid und die Maltose unverändert. Woher diese Abschwächung der Wirksamkeit kommt, hofft Verf. bald entscheiden zu können.

Für die Versuche mit Emulsin diente ein von E. Merck bezogenes Präparat. Während nun das Invertin nur auf α-Methyl-Glukosid einwirkt, spaltet das Emulsin nur das β-Methyl-Glukosid. Ein ähnlicher, höchst bemerkenswerter Gegensatz zeigt sich bei Maltose und Milchzucker, erstere wird von Invertin, letztere von Emulsin gespalten. Rohrzucker wird unter den eingehaltenen Bedingungen von Emulsin ebensowenig wie Maltose in nachweisbarer Menge angegriffen. Die Glukoside des Glycerins und Benzylalkohols werden nicht allein von Invertin, sondern auch von dem Emulsin teilweise gespalten; aber diese amorphen Produkte sind, wie schon betont wurde, jedenfalls Gemische von α- und b-Verbindungen. Die natürlichen aromatischen Glukoside, wie Salicin, Coniferin, Arbutin u. s. w. werden von Emulsin, nicht aber von Invertin hydrolysiert. Sie gehören also der β-Reihe an.

Nachdem die Wirkung des Invertins auf die Maltose beobachtet und dadurch die direkte Vergärbarkeit des Zuckers recht zweifelhaft geworden war, lag die Vermutung nahe, daß die Milchzuckerhefe auch ein Enzym bereite, welches den Milchzucker spalte und so dessen Gärung ermögliche. Da Verf. nicht so viel reine Milchzuckerhefe zur Verfügung hatte, um den Versuch ebenso wie mit Bierhefe durchzuführen, so bediente er sich eines wässerigen Auszuges der Kefirkörner, durch welchen denn auch der Milchzucker reichlich zerlegt wurde, während die Maltose unverändert blieb. Das Experiment soll mit reiner Milchzuckerhefe wiederholt und auch die Isolierung des Enzyms versucht werden.

Aus den angeführten Versuchen, welche Verf. noch auf andere Enzyme, wie die Glukase, das Ptyalin, Myrosin und die Pankreasfermente, sowie auf die selteneren Polysaccharide, Isomaltose, Turanose, Melibiose, Melitriose, Trehalose, die künstlichen Dextrine etc. ausdehnen will, ergab sich also, daß die Enzyme bezüglich der Konfiguration ihrer Angriffsobjekte ebenso wählerisch sind, wie die Hefe und andere Mikroorganismen. Hier wie dort mag die Ursache in dem asymmetrischen Bau der den Eiweißkörpern nahestehenden Enzyme zu suchen sein. Ihre beschränkte Wirkung auf die Glukoside ließe sich durch die Annahme erklären, daß nur bei ähnlichem geometrischem Bau diejenige Annäherung des Moleküls stattfinden kann, welche zur Auslösung des chemischen Vorgangs erfor-

derlich ist. Zur Erläuterung gebraucht Verf. das Bild, daß Enzym und Glukosid wie Schloß und Schlüssel zu einander passen müssen, um eine chemische Wirkung auf einander ausüben zu können.

Die Erfahrung, daß die Wirksamkeit der Enzyme in so hohem Grade durch die molekulare Geometrie beschränkt ist, dürfte nach Verf. auch der physiologischen Forschung einigen Nutzen bringen. Noch wichtiger für dieselbe erscheint ihm aber der Nachweis, daß der früher vielfach angenommene Unterschied zwischen der chemischen Thätigkeit der lebenden Zelle und der Wirkung der chemischen Agentien in Bezug auf molekulare Asymmetrie thatsächlich nicht besteht. Dadurch wird insbesondere die von Berzelius, Liebig u. A. so häufig betonte Analogie der „lebenden und leblosen" Fermente in einem nicht unwesentlichen Punkte wieder hergestellt.

Lintner (München).

Nobbe und **Hiltner**, Vermögen auch Nichtleguminosen freien Stickstoff aufzunehmen? [Mitteilungen aus der Kgl. pflanzenphysiologischen Versuchsstation Tharand. LV.] (Landw. Versuchsstat. Bd. LXV. 1894. Heft 1 u. 2. p. 155—159.)

Nachdem festgestellt war, daß die Leguminosen nur dann freien Stickstoff assimilieren, wenn knöllchenbildende Bakterien vorhanden sind, ermittelten die Verff., daß auch Erle und Oelstrauch (Elaeagnus) unter gleicher Voraussetzung Luftstickstoff verwerten sollen; ebenso scheint sich Podocarpus ähnlich zu verhalten. Sie prüfen dann die Angabe, wonach auch knöllchenfreie Nichtleguminosen in nitratreichem Boden die gleiche Fähigkeit besitzen sollen, durch einige hier mitgeteilte Versuche.

Eine Versuchsreihe mit Senf in Sand mit steigendem Stickstoffgehalte führte zu dem entgegengesetzten Ergebnisse, der Ernteertrag zeigte keine Stickstoffzunahme. Hierauf wurde mit einem Gemische von Sand mit Gartenerde, und zwar mit Erbsen, Senf, Buchweizen und Hafer eine weitere Versuchsreihe angestellt, und nach Sterilisation mit dem wässerigen Auszug aus einem Gemische von Erbsen-, Senf- etc. Erde geimpft, wodurch jedenfalls bei der ersten Pflanze die Knöllchenbildung gesichert werden sollte. In jedem Versuchsgefäße wurden 3 Ernten gezogen und in ihnen Trockensubstanz und Stickstoffmenge bestimmt, nachdem zuvor der Gesamtstickstoff des Bodens ermittelt war.

Aus dem Vergleiche der bezügl. Zahlen folgern die Verff., daß allein die Erbse den Luftstickstoff sammelt; die drei anderen Pflanzen waren trotz der auch hier konstatierten Bodenstickstoffzunahme verkümmert. Die Erbse (und auch andere Bakterienknöllchen tragende Pflanzen) nimmt somit eine isolierte Stellung ein.

Der zur Stickstoffbereicherung führende Vorgang vollzieht sich nach ihrer Meinung im Boden selbst und glauben sie das durch die Untersuchungen von Winogradsky, Berthelot u. a. gestützt. Das Produkt soll aber den Pflanzen nicht unmittelbar zugute kommen, sondern erst nach späterer Nitrifikation des von den Bakterien assimilierten Stickstoffs für die nachwachsenden Vegetationen von Vorteil sein.

Wehmer (Hannover).

Nobbe, Hiltner und **Schmid**, Versuche über die Biologie der Knöllchenbakterien der Leguminosen, insbesondere über die Frage der Arteinheit derselben. Mit 1 Tafel. [Mitteilungen aus der pflanzenphysiologischen Versuchsstation Tharand.] (Landwirtsch. Versuchsstat. Bd. LXV. 1894. Heft 1 u. 2. p. 1—27.)

Der von Hellriegel aus bestimmten Beobachtungen gezogenen Folgerung, daß zwischen den Knöllchenbakterien der verschiedenen Leguminosen erhebliche Unterschiede beständen, wurde von Frank widersprochen, doch reicht den Verff. auch seine Erklärung nicht aus, worauf dieselben bereits früher aufmerksam machten. Durch Verwendung reinkultivierter Bakterien aus den Knöllchen von Robinia und Pisum als Impfstoff erwiesen dieselben thatsächlich bestehende Unterschiede dieser beiden Bakterienformen bezüglich ihrer Wirkung auf Robinia- und Erbsenpflanzen, und wurde dieser Befund auch von Salfeld und Fruwirth bestätigt. Ueber die Ursache derselben war bisher freilich nichts auszusagen. Auch Beyerinck gab späterhin zu, daß die Unterschiede größer seien, als er zuerst angenommen hatte.

Verff. haben nun weitere Untersuchungen über die Frage angestellt, ob die zwischen Robinia- und Erbsenbakterien hervorgetretenen Unterschiede auf verschiedene Arten oder Varietäten, oder nur auf Ernährungsmodifikationen hindeuten. Die Vermeidung zufälliger Infektionen wurde dabei als zu Trugschlüssen führend besonders im Auge behalten, und es fand eine ungewollte Infektion auch in keinem Falle statt, denn sämtliche Leguminoson (Robinia, Pisum, Phaseolus) blieben in sterilisiertem ungeimpften Boden stets knöllchenfrei.

Nach Schilderung der Versuchseinrichtung gehen die Verff. alsdann zur Beschreibung der ausgeführten einzelnen Versuche über, die mit Erbse, Robinie, Lathyrus latifolius, Acacia Lophanta, Vicia villosa, V. sepium u. a. angestellt wurden. Von den Ergebnissen welche im Originale detailliert durch Zahlen belegt werden, sei hier hervorgehoben, daß in stickstofffreiem Lande die verschiedenen Leguminosen durch Bakterien der eigenen Art am schnellsten und wirksamsten gefördert werden, zugleich aber Bakterien nahe verwandter Gattungen sich wenigstens bis zu einem gewissen Grade vertreten können, was bei denen solcher Gattungen, die weiter abstehenden Gruppen angehören, nicht der Fall ist. So veranlaßten Erbsenbakterien bei allen zu den Viciaceen und Phaseoleen gehörigen Versuchspflanzen Knöllchenbildung, hingegen nur ausnahmsweise bei Hedysareen, Genisteen, Trifolieen und Galegaceen, während Robiniabakterien außer bei Robinia selbst nur bei Phaseoleen und vereinzelt bei einigen Trifolien Knöllchen erzeugten. Nach einer ausführlicheren Beschreibung des Wachstums und Aussehens ihrer Versuchspflanzen wenden die Verff. sich dann zu einer Schlußerörterung.

Das von einander abweichende physiologische Verhalten der verschiedenen geprüften Knöllchenbakterien soll denselben zufolge nicht auf Artunterschieden beruhen, da es auffallend wäre, wenn eine dieser „Arten“ einer ganzen Gruppe von Leguminosen (Viciaceen),

eine andere dagegen innerhalb der Galegaceen ihre Wirkung auf die Gattung Robinia beschränkte. Die Wirkungskraft der Knöllchenbakterien gegenüber den verschiedenen Gruppen und Gattungen unterscheidet sich nicht absolut, sondern nur gradweise; es repräsentieren die aus verschiedenen Knöllchen stammenden Kulturen nicht verschiedene Arten, sondern nur Formen, und alle gehören nur der einen Art: Bacillus radicicola Beyerck. an. Es soll dieselbe jedoch durch die besondere Pflanze so energisch beeinflußt werden, daß die Nachkommen nur noch für diese besondere Leguminosenart volle Wirkungsfähigkeit besitzen, für alle anderen aber solche mehr oder minder verliert. Diese Feststellung hat nach Ansicht der Verff. eine praktische Bedeutung für den Landwirt.

Beim Anbau von Leguminosen muß derselbe durch Ausstreuen von entsprechender Impferde für eine rechtzeitige und kräftige Knöllchenbildung Sorge tragen; jene ist von solchem Boden zu nehmen, welcher im Vorjahre die betreffende Leguminosengattung in gesundem Zustande trug. Damit soll also die richtige „Anpassungsform“ zugeführt werden. Allerdings findet ja auch gelegentlich Knöllchenbildung bei gewissen Leguminosen an einem Orte, wo solche noch nie angebaut wurden, statt, weil eben die bezüglichen Bakterien sich auch außerhalb des Pflanzenkörpers vermehren können; man hat es dann aber mit gewissermaßen „neutralen“ Formen zu thun, deren Anpassung an die betreffende Leguminose nicht stattgefunden hat. Es wird weiterhin noch besonders hervorgehoben, daß also eine Leguminose bei der Aussaat in einen beliebigen Boden nur dann Knöllchen bildet, wenn dort die „neutrale“ oder die der betreffenden Art entsprechende Form vorhanden ist; ersteres ist der Fall, wenn hier noch nie oder seit längerer Zeit nicht Leguminosen wuchsen, letzteres, wenn die in Frage kommende Pflanze dort schon wuchs. Wird für diese nun eine andere Art, welche mit derselben nicht nahe verwandt, kultiviert, so wird sie keine oder wenigstens nur mangelhafte Knollenbildung aufweisen und diese somit für die Stickstoffernährung von geringem Werte sein. Wie lange jene Anpassung dauert, wäre noch festzustellen, voraussichtlich aber länger als ein Jahr.

Ebenso ist noch der Punkt weiterhin zu klären, inwieweit die Bakterien verwandter Gattungen einander gegenseitig wirksam vertreten können. Auf Grund der bisherigen Versuche der Verff. gilt das aber schon für Erbsen- und Wickenbakterien; unwirksam sind aber die Erbsen- (bez. Wicken-)bakterien auf Robinia, Serradella, Rot-, Wund- und andere Kleearten. Wehmer (Hannover).

Gonnermann, R., Die Bakterien in den Wurzelknöllchen der Leguminosen. (Landwirtschaftliche Jahrbücher. Bd. XXIII. 1894. Heft 4—5. p. 649—671.)

Bei den bisherigen Untersuchungen wurde der meiste Wert auf das symbiotische Zusammenleben gelegt, während die bakteriologische Untersuchung mehr in den Hintergrund trat. Verf. wandte sich also namentlich dieser Seite zu, da über die wahre Natur der Knöllchenbakterien der Leguminosen sich gar nichts erwähnt findet oder da

die wenigen Angaben, die fast allein den Bacillus radicicola B. betreffen, jeden in völliger Unklarheit lassen müssen. Selbst Beyerinck giebt keine ausreichende Beschreibung über seinen Bacillus, am allerwenigsten beschreibt er sein Züchtungsverfahren; er erwähnt denselben zwar mit Cilien, giebt also zu, dieselben nicht selbst beobachtet zu haben.

Verf. erscheint es nun nach seinen zahlreichen Untersuchungen sowie aus den Impfresultaten mit rein gezüchteten Bakterien unmöglich, anzunehmen, daß ein einziges Bakterium, wie mehrfach angenommen wird, die Knöllchenbildung bedingt; er folgert im Gegenteil, daß verschiedenen Bakterien diese Eigenschaft zukommt. Bei fast allen andererseits angestellten Versuchen wurde bislang mit aufgeschwemmten Bodenauszügen, mit Kulturerde oder mit Knöllcheninhalt infiziert, während die vorliegenden Beobachtungen sich mit direkter Reinzuchtimpfung beschäftigen.

Unter den neun verschiedenen Arten gelang es Verf., nur zwei Kokkenformen aufzufinden, während Frank überhaupt nur von Kokken spricht, die sich im Pflanzenkörper zu Bacillen umwandeln sollen. Wäre dieser Vorgang, welchen Beyerinck und Zopf vertreten, möglich, so würde das fast allgemein angenommene Cohn'sche Gesetz der konstanten Art, welches auch für die Bakterien als Stäbchen-, Kokken- und Spirillformen aufgestellt ist, unhaltbar sein, eine genaue Charakteristik der Arten zur Unmöglichkeit werden. Nun ist je nach dem Nährsubstrat der gleiche Bacillus einmal schlanker, das andere Mal kürzer entwickelt oder ein runder Coccus kann oval werden, aber der Annahme Beyerinck's, daß sein Bacillus radicicola Bacillen-, Kokken- und Bläschenform annehmen soll, ist auf Grund jenes Gesetzes nicht gut beizustimmen. Involutionsformen treten allerdings mehrfach auf — das auffallendste Beispiel zeigt der Choleravibrio —, allein die Grundform bleibt doch dabei gewahrt.

Impft man zum Beispiel von einem Hängetropfen auf Agar und Gelatine, so ist hier die Entwickelung häufig, wie es die Bakterien bei Lathyrus sehr schön erkennen ließen, ganz verschieden, indem auf Agar kleine Bacillen mit Hülle, auf Gelatine dagegen dieselbe Art sich zu großen Bacillen ohne Hülle entwickeln und die von Agar wieder auf Kartoffeln übertragenen Bacillen gleichfalls hüllenlose große Stäbchen werden; allein kokkenförmig sind dieselben niemals geworden.

Zweifellos finden sich in jeder Bodenart andere Bakterien, welche befähigt sind, die Knöllchenbildung zu bedingen, wie das Auffinden in den Kulturböden in Rostock, Bankau und Langfuhr bestätigt. Vielleicht stehen die verschiedenen Arten auch mit der verschiedenen Zusammensetzung der Kulturböden in Einklang, so daß in derselben immer nur diejenigen aufgefunden werden, welche ihre Lebensbedingungen vorfinden. Verf. vermag keineswegs in den verschieden von ihm isolierten Arten nur Uebergänge oder Wandelungen zu erkennen. So vermochte z. B. auch Nobbe unter 156000 Keimen nicht eine einzige Kolonie des Beyerinck'schen Bacillus aufzufinden.

Was nun die sogenannten Bakteroiden, die Gabelformen anlangt, so geht Gonnermann's Ansicht dahin, daß dieselben zu den Eigentümlichkeiten der Bakterien während der Vegetation im Pflanzenkörper gehören und sich zu solchen gruppieren, ähnlich wie sich bei besonderen Verhältnissen Kokken in den schönsten Perlschnüren, Bacillen zu langen Fadenlocken (Anthrax, Proteus), wie sich der Cholera- und Finklervibrio zu den bekannten Spirillen gruppiert, nur mit dem Unterschiede, daß diese Formen auch in den Kulturen wiedererscheinen. Auf der anderen Seite ist wiederum bekannt, daß eine Anzahl von Bakterien, z. B. die der Pneumonie, ihre charakteristische Hülle in den Kulturen gleichfalls nicht erhalten, und aus demselben Grunde sind wohl die Gabelformen in Kulturen gleichfalls nicht zu erzielen: nur in einem Falle sollen sie im Sedimente einer alten Stichkultur aufgefunden worden sein, allein von keiner anderen Seite ist diese Beobachtung bestätigt worden.

Ein sogenanntes Mykoplasma kann Gonnermann nicht annehmen, weil sich die Gabelformen selbst im Embryo vorfinden; eine bis dahin reichende Infektion ist doch kaum anzunehmen, dagegen liefert diese Beobachtung den Beweis der Wahrscheinlichkeit der Gonnermann'schen Ansicht: Im Hängetropfen zerfallen in kurzer Zeit die Gabelformen zu Bakterien, welche lustig umherschwimmen und im gefärbten Präparate sind keine leeren Hüllen zu entdecken, die sich entschieden auffinden ließen, wenn die Bakterien in einem Mykoplasma eingebettet gewesen wären, welches dann in so kurzer Zeit vollständig verschwunden sein müßte. E. Roth (Halle).

Dufour, Jean, Ueber die Bekämpfung des „Heuwurms" (Cochylis ambiguella Hübn.). (Landw. Jahrbuch d. Schweiz. Bd. VII. 1893. p. 53—61.)

Seit Jahrzehnten ist der Heuwurm — auch Traubenwurm, Sauerwurm, einbindiger Traubenwickler genannt — einer der schlimmsten Feinde des schweizerischen Weinbaues. Der im Jahre 1891 dem waadtländischen Weinbau durch ihn zugefügte Schaden z. B. wurde auf mehr als 7 Millionen Franken geschätzt. Der Parasit ist längstens auch in Oesterreich und Deutschland bekannt und gefürchtet, ebenso scheint er auch in Italien und Frankreich eine größere Ausdehnung gewonnen zu haben; in letzterem wird er als Cochylis tignuola, ver de la vigne, ver de vendange bezeichnet. Die Abhandlung zerfällt in 2 Hauptteile:

I. Allgemeines über den Heuwurm und dessen Bekämpfung.

Zur Zeit der Rebenblüte erscheint der Heuwurm als ein winziges Räupchen von rötlicher Farbe; er setzt sich in den Blütenteilen fest. Wenn die Trauben besser sich entwickeln, verwandelt sich der Wurm zur Puppe und bald darauf zum Schmetterlinge.

Aus den Eiern des letzteren entstehen dann die sog. Sauerwürmer. Diese bohren sich in die Traubenbeeren hinein und zerfressen das Innere; die angegriffenen Beeren bleiben dann grün und sauerfaul. Vor der Weinlese verläßt das Räupchen sein Nest und nimmt in Rissen der Rinde, auf dem alten Holze des Rebstockes, auf Rebstickeln etc. sein Winterquartier ein. Aus den Winterpuppen

entschlüpfen im Frühjahre gelbliche Schmetterlinge, welche ihre Eier auf Gescheinen oder in deren Nähe legen, woraus vor der Blütezeit die Heuwürmer zum Vorscheine kommen. Die Räupchen (vom Heu- und Sauerwurme) haben eine schmutziggraue, fleischfarbige, rötlichbraune Farbe, mit braunem Kopfe; ihre Länge beträgt 8—12 mm. Die Schmetterlinge haben 6—8 mm Körperlänge oder 12—15 mm mit ausgebreiteten Flügeln. Die oberen Flügel sind strohgelb, mit einem braunen Querstriche; die unteren Flügel grau. Die Puppen sind rotbraun, 6—7 mm lang.

Die Bekämpfung richtet sich, dem Lebenscyklus des Parasiten entsprechend, gegen die 3 Hauptformen: Puppe, Schmetterling und Raupe, und zwar für jede der zwei erscheinenden Generationen in zwei verschiedenen Perioden des Jahres.

Bei der Zerstörung der Puppen kommt nur die Wintergeneration in Frage. Durch ihre verdeckte Stellung (in den Rissen der alten Rinde, der Rebstickel etc.) und durch ihren Chitinpanzer sind die Puppen derart geschützt, daß sie mit gewöhnlichen Mitteln, wie Kalkmilchanstrich etc., nicht zu zerstören sind.

Prof. Valéry Mayet empfiehlt das Begießen des Rebkopfes mit warmem Wasser im Spätherbste, zu einer Zeit, wo das Insekt seine vollkommene Verpuppung noch nicht durchgeführt hat. Dieses komplizierte Verfahren ließe sich jedoch nach der Ansicht des Verf.'s wohl nicht ausführen. — Durch die Weinbauversuchsstation in Lausanne wurden in den Jahren 1890 und 1891 verschiedene Versuche zur Zerstörung der Winterpuppen vermittelst Bestreichen der Reben mit Kalkmilch, Bordeauxbrühe, Eisenvitriolmischung, ferner durch Abreiben der Stöcke mit dem eisernen Sabaté-Handschuhe etc. ausgeführt.

Diese Operationen vermochten allerdings auf das Befinden der Reben eine gute Wirkung auszuüben, genügten aber für die Zerstörung der Sauerwurmpuppen nicht.

Die Vertilgung der Schmetterlinge geschieht mittels Fanglaternen, deren Wände mit Klebstoff bestrichen werden oder mit ebenso behandelten Schirmen und Fächern, die an den Abenden zur Flugzeit durch die Weinberge getragen werden.

Die Zerstörung der Heu- resp. Sauerwürmer kann auf mechanischem Wege durch Absuchen und Zerdrücken der Heuwürmer, resp. Einsammeln der sauerfaulen Beere geschehen.

II. Versuche über die Anwendung von Insekticiden zum Abtöten des Heuwurmes.

Nach den Erfahrungen des Verf.'s ist die direkte Bekämpfung des Uebels als „Heuwurm“ das Vorteilhafteste.

Bei dem Aufsuchen eines geeigneten Insekticides handelt es sich darum, eine Mischung mit folgenden Eigenschaften zu finden: a) Das Insekticid muß in das Gespinnst des Heuwurmes eindringen und den mit einem wachsartigen Ueberzug geschützten Leib des Räupchens wirklich benetzen. b) Das Tierchen muß in kurzer Zeit vergiftet oder durch Asphyxie getötet werden. c) Die betr. Substanz soll für die Gescheine und für die gerade während der Behandlungszeit stattfindende Befruchtung vollkommen unschädlich sein. d) Dieselbe soll

den Trauben und dem Weine keinen besonderen Geschmack mitteilen. e) Substanzen, welche für den Menschen giftig sind, können nicht zur Anwendung kommen. f) Es soll endlich das Insekticid billig sein und sich leicht anwenden lassen.

Das Räupchen hat eine starke Widerstandsfähigkeit. Säure (10—50 Proz.), 50 Proz. Ammoniak, schwefelige Säure etc. haben auf das Tier sehr beschränkte Wirkung, ebenso die verschiedenartigsten Salzlösungen, während die Traubengescheine gegen diese Substanzen sehr empfindlich sind. Die Insekticide werden in Verbindung mit einer 1—3-proz. Schmierseifelösung auf deren Wirkung geprüft, da die Tiere die Benetzung damit besser annehmen.

Die im Jahre 1889—1892 ausgeführten Versuche wurden vom Verf. folgendermaßen angestellt: Die von den Heuwürmern angegriffenen Gescheine wurden ausgesucht und in Mischungen von verschiedenen Konzentrationen eingetaucht, resp. mit trockenen Insekticiden bestreut. Sodann wurden dieselben unter Glocken gestellt und etwa 24 Stunden nachher untersucht, wobei die Zahl der abgetöteten, kranken und gesunden Heuwürmer notiert wurde. Wenn eine der geprüften Substanzen die erwünschte Wirkung zu haben schien, so wurden nun weitere Versuche, nicht nur im Laboratorium, sondern im Freien, d. h. auf blühenden Rebstöcken, unter genauer Beobachtung der manchmal erst nach 6—8 Tagen recht sichtbaren Schädigungen der Rebenblüten, gemacht. — Verf. zählt eine lange Reihe von solchen Versuchs-Insekticiden auf; die allerbeste Wirkung wurde jedoch erhalten von einem Gemische einer 3-proz. Schmierseifelösung mit Pyrethrumpulver. Letzteres wirkt dabei als spezifisches Gift für die Heuwürmer wegen der in demselben befindlichen harzartigen Substanz. In zweiter Linie, jedoch unsicherer, kommen Tabakextrakte und Schmierseifelösung.

Die mit der Pyrethrumseifemischung gemachten Versuche in der Praxis ergaben folgende Resultate: Im Jahre 1890 von 31 mitgeteilten Ergebnissen: 10 sehr gute, 12 gute, 5 mittelmäßige und 4 schlechte.

Im Jahre 1891 von 32 Versuchsstellen: 15 sehr gute, 11 gute, 2 mittelmäßige und 4 schlechte.

Im Jahre 1892 von 57 Versuchsstellen: 44 befriedigende, 9 zweifelhafte und 4 schlechte Resultate.

Diese Bespritzung übt auf die Gescheine sowohl wie auf die bereits blühenden nicht schädlich und teilt auch dem Weine keinen Beigeschmack mit. Baier (Kiel).

Prillieux et **Delacroix**, Maladie de la toile, produite par le Botrytis cinerea. (Compt. rend. T. CXVIII. 1894. p. 744.)

Mangin, Louis, Sur le parasitisme d'une espèce de Botrytis. (Ibid. p. 882.)

In der Umgegend von Fontainebleau werden die Gärten durch eine Krankheit verwüstet, welche schon im Jahre 1893 vielfach bemerkt worden war und sowohl Gemüse- als Zierpflanzen befällt.

Die heimgesuchten Pflanzen sterben ab, ohne daß ihre äußeren Organe angegriffen erscheinen. Nähere Untersuchung ergiebt, daß

ihre Wurzeln in der Nähe des Wurzelhalses von einem feinen Netz außerordentlich zarter Fäden, von einem wahren Gewebe (toile) umgeben sind, das die Wurzeln unter einander verbindet und zugleich zahlreiche Erdpartikelchen in seine Maschen mit einflicht. Die Blätter derartig befallener Pflanzen beginnen bald zu verwelken und zu vergilben, die Pflanzen werden schwarz und verfaulen schließlich, wobei sich auf ihnen die Fruktifikationen von Botrytis cinerea entwickeln, aus deren Mycelfäden, wie Aussaatversuche auf Kartoffelscheiben erwiesen, der Wurzelpilz besteht.

Noch mehr als auf freiem Lande tritt Botrytis in der gleichen Weise als Schädling in den Vermehrungshäusern auf, namentlich an Begonien, Echeverien und ähnlichen Sämlingen.

Es erscheint den Verff. wahrscheinlich, daß Botrytis die Ursache vieler Pflanzenverluste ist, unter denen die Gärtner zu leiden haben. Sie wurde u. a. auch an Levkojen beobachtet, ferner an Rosen, bei welchen unter ihrer Einwirkung Blätter und Zweige, sowie die halb ausgebildeten Knospen vertrocknen. Die bisher mit Bordelaiser Brühe und 4proz. Kupfersaccharat ausgeführten Versuche lassen hoffen, daß es gelingen wird, dem Pilze mit diesen und ähnlichen Mitteln mit Erfolg zu begegnen.

Mangin hat bereits einen Monat vor Veröffentlichung der Prillieux'schen Arbeit in der Soc. de biolog. Mitteilungen über Botrytis gebracht und sucht daher seine Priorität zu wahren. Zugleich macht er gegen die Versuche und Beobachtungen von Prillieux und Delacroix verschiedene Einwendungen. Insbesondere weist er darauf hin, daß die genannten Autoren es unterlassen hätten, gleich ihm Infektionsversuche mit reinem Sporenmateriale von Botrytis auszuführen, und daß die Bestimmung der beobachteten Botrytisart als B. cinerea nicht unanfechtbar sei, da die zugehörige Peziza, welche allein eine Identifizierung der Art gestatte, nicht festgestellt wurde. Was die Bekämpfung des Pilzes mittelst Kupferpräparaten betrifft, so erinnert Verf. an seine eigenen Versuche, wonach die Sporen von Botrytis cinerea schon durch Lösungen mit ein Millionstel Kupfer oder Zink getödtet würden (? der Ref.). Da der Pilz hauptsächlich den unterirdischen Organen schädlich werde, so dürfte Besprengen der Pflanzen überhaupt wenig nützen, vielmehr müssen die Kupfer- oder Zinksalze in einer Form und einer Menge, welche für die Wurzeln unschädlich bleibt, dem Boden beigefügt werden. Nach dieser Richtung beabsichtigt Verf. weitere Versuche anzustellen.

Referent möchte nicht unterlassen, darauf hinzuweisen, daß er schon im Jahre 1891 eine Krankheit der Levkojen beschrieb, welche durch das Auftreten der Botrytis cinerea an den Wurzeln jugendlicher Pflanzen veranlaßt wird, daß er somit bezüglich des Nachweises des parasitischen Vorkommens dieses Pilzes an den Wurzeln gärtnerischer Kulturpflanzen die Priorität für sich in Anspruch zu nehmen berechtigt ist. L. Hiltner (Tharand).

Hennings, P., Ueber das Vorkommen von Bulgaria polymorpha (Oeder) an lebenden Eichen. (Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten. Jahrg. 1894. Bd. IV. Heft 5. p. 266.)

Der meist an abgestorbenen Eichen, seltener an Buchen auftretende Pilz findet sich im Berliner Botanischen Garten vielfach an frisch gefällten Stämmen einiger Quercusarten (rubra, palustris und cerris); die Fruchtkörper brechen bereits kurze Zeit nach dem Fällen, gewöhnlich im Winter, herdenweis aus der Rinde hervor, und neuerdings wurde diese Erscheinung vom Verf. auch an dem lebenden Stamme einer starken Quercus rubra beobachtet.

Angaben über das Auftreten an lebenden Stämmen liegen in der Litteratur nicht vor. Verf. hält den Pilz für einen schädlichen Parasiten, der Eichen- und Buchenpflanzungen unter Umständen nachteilig werden kann. Wehmer (Hannover).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

DR. WILHELM WINDISCH.

Allgemeines über Bakterien und andere Mikroorganismen.

Bouchard und **Charrin**, Ueber die Gründe der Unschädlichkeit einiger Parasiten. (Vortrag, gehalten auf dem XI. internat. mediz. Kongresse in Rom.)

Charin, Einfluß der Atmosphärilien auf die Mikroorganismen. (Vortrag gehalten au dem XI. internat. mediz. Kongresse zu Rom.)

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Heim, L., Objektträgerhalter. (Centralbl. f. Bakteriologie u. Parasitenkunde. I. Abt. Bd. XVII. 1895. p. 84.)

Holle, G., Eine neue Form des Dichroskopes. (Zeitschrift für Instrumentenkunde. Bd. XV. 1895. p. 28.)

Moore, V. A., Anisöl als Einbettungsmittel zum Serienschneiden mit dem Gefriermikrotom. (American Monthly Microsc. Journ. Bd. XV. 1894. p. 273.)

Systematik, Morphologie und Biologie der Bakterien und anderer Mikroorganismen.

Aderhold, Rudolf, Ueber die Morphologie deutscher Weinheferassen. (Berichte der Kgl. Lehranstalt für Obst-, Wein- und Gartenbau zu Geisenheim a. Rh. für 1893—94. p. 61—62.)

Dewèvre, O., A propos d'un genre nouveau de Mucorinées. (Bulletin de la Société belge de microscopie. T. XXI. 1895. p. 36—38.)

Allgemeine Gärungsphysiologie.

Koch, A., Jahresbericht über die Fortschritte in der Lehre von den Gärungsorganismen. Jahrg. IV. 1893. 8°. VII, 312 p. Braunschweig (H. Bruhn) 1895. 9,60 M.

Molkerei.

Dokkum, M. L., Die giftigen Bestandteile des in Fäulnis übergegangenen Käses. (Rev. internat. des falsifications. 1894. 15. Dec.)

Günther, Carl und **Thierfelder, Hans**, Zur Kenntnis der spontanen Milchgerinnung. (Hyg. Rundschau. Bd. IV. p. 1105.)

Roth, O., Ueber das Vorkommen von Tuberkelbacillen in der Butter. (Korrespondenzblatt schweizerischer Aerzte. 1894. No. 17, durch Hyg. Rundschau. Bd. IV. p. 1132.)

Brauerei.

Delbrück, M., Natürliche Hefenreinzucht. (Wochenschr. f. Brauerei. Jahrg. XII. 1895 No. 6. p. 121.)

Zuckerfabrikation.

Gallois, Ueber Schaumgärung. (Archiv für die Zuckerfahrikation Javas. Bd. II. p. 962.)

Nahrungs- und Genußmittel, Konserven etc.

Inghilleri, Ueber das Verhalten des Milzbrandbacillus in unsterilisierter Milch. (Vortrag, gehalten auf dem XI. internationalen medizinischen Kongresse in Rom.)

Wendling, F., Konservieren von Nahrungsmitteln. (Zeitschr. f. angew. Chemie. 1894. p. 411.)

Wasser.

Bujwid, O., Ueber verschiedene Arten der Wasserfiltration. (Vortrag gehalten auf dem XI. internat. mediz. Kongresse in Rom.)

Burri, H., Nachweis von Fäkalbakterien im Trinkwasser. (Hygienische Rundschau. Bd. V. p. 49—54.)

Kurth, H., Gesundheitliche Beurteilung der Brunnenwässer im bremischen Staatsgebiet mit besonderer Berücksichtigung des Vorkommens von Ammoniumverbindungen und deren Umwandlungen. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XIX. 1895. p. 1.)

Sirena, S. und **Scagliosi, G.**, Lebensdauer des Milzbrandbacillus in der Bodenerde, im Trink- und Meerwasser und in den Abfallwässern. (Vortrag gehalten auf dem XI. internat. mediz. Kongresse in Rom.)

Durch Parasiten verursachte Krankheiten der Pflanzen.

Aderhold, R., Die Perithecienform von Fusicladium dendriticum Wal. (Venturia chlorospora f. Mali). (Berichte der deutschen botanischen Gesellschaft. Jahrg. XII. Heft 9. p. 292.)

Bessey, Charles E., The homologies of the Uredineae (the Rusts.) (Illustrated.) (The American Naturalist. Vol. XXVIII. 1894. Dezemberheft. No. 336. p. 989.)

Dietel, P., Descriptions of new species of Uredineae and Ustilagineae, with remarks on some other species. II. (Botanical Gazette. Vol. XIX. p. 303—306. Mit Taf. XXIX.)

Ferry, R., Recherches de M. P. A. Dangeard sur la reproduction sexuelle des Ustilaginées. (Le Botaniste. 1894. p. 221.)

— —, Le Fusicoccum abietinum Sacc. (Phoma abietina Hartig) d'après M. Mer. (Journal de Botanique. 1894. p. 364.)

Frank, B., Ueber Phoma Betae, die Herzfäule oder Trockenfäule der Zuckerrübe. (Neue Zeitschrift für Rübenzuckerindustrie. Bd. XXXIV. 1895. No. 5. p. 58.)

Kobus, Ueber Rohrfeinde. (Archiv für die Zuckerfabrikation Javas. Bd. II. p. 861.)

Koch, A., Untersuchungen über Rebenmüdigkeit. (Berichte der Königl. Lehranstalt für Obst-, Wein- und Gartenbau zu Geisenheim a. Rh. für 1893—94. p. 70—72.)

Linhart, Georg, Die Rebkrankheit Gommose bacillaire in Ungarn. (Die Weinlaube Jahrg. XXVII. 1895. No. 5. p. 55, nach einem auf der Januarsitzung der önologilogischen Sektion des Ung. Landes-Agrikulturvereins gehaltenen Vortrage.)

Lukassen und **Went**, Abbildungen einiger Rohrkrankheiten. 4 Tafeln mit Erläuterungen. (Arch. f. d. Zuckerfabrikation Javas. Bd. II. p. 953.)

Reusch, F. J., Eine neue Weinkrankheit. (Pharmazeutische Zeitung. Jahrg. XXXIX. p. 864.)

Sorauer, P., Ein Versuch über die Erblichkeit der schwarzen Trockenfäule bei Kartoffeln. (Deutsche Landwirtschaftszeitung. Jahrg. XXXIX. 1895. No. 10. p. 73.)

Wendisch, Ernst, Ueber Wurzelfäule der Reben. (Die Weinlaube. Jahrg. XXVII. 1895. No. 5. p. 49.)

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien.

Aikman, C. H., Air, Water and disinfectants. New. edit. 12°. (Manuals of Health). Christian Knowledge Soc. 1 s.

Cathelineau, H. und **Lebrasseur, A.**, Ueber Anwendung der Fluoride in den Gärungsgeweben und über ihre toxische, therapeutische und physiologische Wirkung. (Rev. intern. des falsifications. Bd. VIII. p. 70—71.)

Colasanti, G., Die bakterientötende Wirkung des Euforins. (Vortrag gehalten auf dem XI. internat. mediz. Kongresse in Rom.)

Jolles, Max, Ueber die Desinfektionsfähigkeit von Seifenlösungen. (Zeitschrift für Hygiene. Bd. XIX. 1895. p. 153.)

Pichler, A., Versuche über die Verläßlichkeit der Sterilisationsmaßnahmen für die Instrumente und Verbandstoffe. (Centralbl. f. Chirurgie. 1894. No. 15. p. 337.)

Vincent, H., Desinfektion der Fäkalien. (Compt. rend. T. CXIX. p. 965—968.)

Wortmann, Julius, Ueber die Wirkungen des Formaldehyds auf Bakterien und Schimmelpilze, sowie über seinen Einfluß auf das Gedeihen höherer Pflanzen. (Berichte der Kgl. Lehranstalt für Obst-, Wein- und Gartenbau zu Geisenheim a. Rh. für 1893—94. p. 72—73.)

Inhalt.

Originalmitteilungen.

Zusammenfassende Uebersichten.

Referate.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie und Parasitenkunde.

Zweite Abteilung:

Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie und Pflanzenpathologie.

In Verbindung mit
Prof. Dr. **Adametz** in Krakau, Dr. W. M. **Beyerinck** in Delft, Prof. Dr. **A. B. Frank** in Berlin, Dr. **v. Freudenreich** in Bern, Prof. Dr. **Emil Chr. Hansen** in Kopenhagen, Dr. **Lindner** in Berlin, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Prof. Dr. **Stutzer** in Bonn, Privatdocent Dr. **Wehmer** in Hannover, Dr. **Weigmann** in Kiel, Dr. **Wilfarth** in Bernburg und Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg

herausgegeben von

Dr. O. Uhlworm in Cassel.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

I. Band. Jena, den 11. März 1895. **No. 6.**

Preis für den Band (26 Nummern) 16 Mark.

Original - Mittheilungen.

Aspergillus Oryzae, der Pilz der japanischen Saké-Brauerei.

Von

Dr. C. Wehmer,

Privatdozenten an der Technischen Hochschule zu Hannover.

Mit 1 Tafel.

(Schluß.)

Makroskopisches Aussehen der Vegetationen in Kulturen.

Die auf flüssigen Medien gezogenen Decken stimmen im Aussehen mit den auf festen Substraten gebildeten Ueberzügen ziemlich überein, wobei im einzelnen freilich die besondere Natur der als Nährstoff dienenden Substanz einen gewissen Einfluss äußert. So erhält man auf gedämpftem Reis und auch Stärkekleister im allgemeinen rasch wachsende üppige Vegetationen, während die Entwickelung auf

Zucker-Gelatine (im Kolben wie auf Platten) langsam und dürftig ist, so daß hier auch die Größe der Sporenträger im allgemeinen 0,5 mm nicht übersteigt. Auf die Schnelligkeit der Entwicklung dieser thermophilen Species ist übrigens die Tempeatur naturgemäß von wesentlichem Einflusse; das hat man insbesondere bei Kulturen auf flüssigen Medien zu beobachten Gelegenheit, denn Aussaaten auf Zuckerlösung, Bierwürze, Rosinenauszug ergeben bei Zimmertemperatur nur langsames Wachstum, während sie im Wärmkasten rasch zu kräftigen Decken führen. Andererseits ist das Wachstum auf Reis auch bei niederer Temperatur ein immerhin besseres.

Die jungen Mycelien sind durch schneeweiße Farbe und reichliche Entwickelung von Lufthyphen ausgezeichnet. Gekochter Reis überzieht sich alsbald mit einem gleichmäßigen sammtartigen weißen Ueberzuge, während auf Flüssigkeiten eine lockere, in den unteren Partieen dichter verwebte Decke erscheint, die jedoch nicht in allen Fällen sich über die ganze Oberfläche erstreckt, vielmehr gelegentlich nur als Polster- oder Rasenbildung auftritt. Das Erscheinen der ersten Conidienträger-Anlagen schwankt zwischen weiteren Grenzen; im allgemeinen pflegen sie unter weniger günstigen Entwickelungsbedingungen sehr zeitig aufzutreten, ohne daß dies jedoch als Regel gilt, denn z. B. findet man sie in rasch wachsenden Kulturen auf Zuckerlösung (30° C) bereits am zweiten oder dritten Tage nach der Aussaat. In anderen Fällen, und so gelegentlich auch auf Reis, kann ein Zeitraum von 1—2 Wochen bis zur Sporenbildung vergehen, obschon hier üppige vegetative Decken längst vorhanden sind. Anscheinend erfolgt der Vorgang nicht immer ganz regelmäßig und wird durch irgend welche unbekannte Einflüsse verzögert. Schließlich pflegt sich aber gewöhnlich die ganze Oberfläche reichlich mit den bereits ohne weiteres als solchen kenntlichen, 1—2 mm hohen Conidienträgern zu bedecken. Es gilt das auch für sich langsam entwickelnde Zuckerkulturen bei Zimmertemperatur, obschon hier bis dahin 2—3 Wochen und mehr verfließen können.

Die anfangs weiße Deckenfarbe geht mit der fortschreitenden Conidienanhäufung in ein zunächst helleres, später dunkleres Gelb bis Braun über. Wenigstens ist das nach meinen Beobachtungen der häufigere Fall, wie ich ihn gewöhnlich bei Kulturen auf Traubenzuckerlösung und Rosinenabkochung beobachtete. Gelb oder Braungelb ist aber nicht die einzige zur Ansicht kommende Farbe, vielmehr findet man nicht selten auch grün-gelbe und selbst mehr oder weniger grüne Decken, welche späterhin freilich in unansehnliche graue oder schmutzig grüne Nüancen übergehen, so daß ältere Vegetationen, gleichwie bei manchen anderen Species, in dieser Hinsicht von jungen merklich differieren. Ein grünliches Gelb — wie oben bemerkt, auch die Farbe der Kojikörner — das gelegentlich stark ins Grüne ging, beobachtete ich z. B. bei einigen Kulturen auf Stärkekleister, Reis, Weißbrot, während die Conidien bildenden Kolonieen auf Gelatineplatten ausschließlich hell- bis dunkelgelb waren. Wenn Schröter (l. c.) also die Farbe der Conidienrasen als „chromgelb" angiebt, so trifft das nicht gerade unbedingt zu.

Worauf diese Ungleichmäßigkeit in der Färbung zurückzuführen

ist, bleibt dahingestellt; es mag da mancherlei beteiligt sein (Substratcharakter, Temperatur etc.), ohne daß ich Bestimmtes anzugeben vermöchte. Uebrigens ist die Erscheinung ja keine einzig dastehende, sondern auch von einigen anderen Aspergillus-Species bekannt (A. flavus u. a.) und die Ursache dieser „Polychromie“ ist auch hier nicht besser studiert, wennschon Versuche zur Erklärung gemacht sind [1]). Natürlich ist mit dem Auftreten in von einander verschiedenen Farben (Grün, Gelb) nicht der innerhalb derselben Kultur sich häufig vollziehende allmähliche Farbenwechsel (Altersfolge) zu identifizieren.

Obschon sie somit eine Zwitterstellung einnimmt, werden wir die Species hiernach wohl noch am besten bei den gelben Arten unterbringen und insbesondere näher mit dem bereits genannten A. flavus Bref. in Vergleich stellen.

Der Conidienträger.

(Fig. 1 und 7—13 der Tafel.)

Einer besonderen Aufmerksamkeit bedarf naturgemäß der Conidienträger als das unstreitig wichtigste Organ dieser wie der verwandten Arten. Dasselbe ist Träger der für die einzelnen Species charakteristischen Farbe, das so gut wie ausschließlich für die Erhaltung der Art in Betracht kommende Gebilde und endlich liefert es für die überwiegende Zahl der Fälle die einzigen diagnostisch brauchbaren Merkmale. Der gelegentlich bestehende Wert anderweitiger Kennzeichen — wie sie Fruchtbildung und physiologische Eigentümlichkeiten bieten — soll damit keineswegs unterschätzt werden, wennschon wir beachten wollen, daß derartiges im allgemeinen weniger leicht zu eruieren ist, als gerade die morphologischen Besonderheiten des stets massenhaft vorhandenen typischen Vermehrungsorgans dieser Arten. Es soll nun die Frage, ob der Conidienträger für alle Fälle zur Charakterisierung bez. Erkennung der Species hinreicht, hier nicht ausführlicher erörtert werden. Im allgemeinen trifft dies aber zu, und zwar unter der Voraussetzung, daß Bau- und Größenverhältnisse des Organes unter Berücksichtigung seiner Variabilität schärfer ins Auge gefaßt werden. Ohne ein genaueres Studium einer Reihe von Formen derselben Species, insbesondere auch ohne eine vergleichende Betrachtung verschiedenartiger Species, ist das freilich nicht möglich, und auf die Betrachtung eines einzigen Präparates hin läßt sich ebensowenig eine richtige Diagnose aufstellen, wie hiernach das in der Betrachtung derartiger Formen minder geübte Auge ohne weiteres den sicheren Entscheid über die gerade vorliegende Art fällen kann. In der Litteratur begegnen wir bisher nur zwei Autoren (de Bary, Wilhem), welche speziell dem Conidienträger eine etwas eingehendere Würdigung zukommen ließen.

Der Conidien-bildende Apparat von Aspergillus Oryzae umfaßt, wie oben bereits ausgeführt, drei wesentliche Bestandteile:

---

1) So gab u. a. Siebenmann für A. flavus an, daß er auf trockenem Boden schwefelgelb, auf feuchtem olivengrün sei, was mir noch des genaueren Nachweises bedürftig erscheint. („Die Fadenpilze Aspergillus flavus, niger etc.“ Wiesbaden 1883. p. 5.)

Stiel mit kopfförmiger Anschwellung (Blase), Sterigmen und Conidien; alle drei unterliegen mehr oder minder bedeutenden Schwankungen betreffs Form, Größe und sonstiger Ausgestaltung, mit Einschluß der bereits erwähnten Farbe.

Wenden wir uns zunächst zu dem allgemeinen Charakter desselben. Derselbe (Fig. 1) stellt eine mehr oder weniger derbwandige, weitlumige, meist einzellige, an ihrer Spitze in wechselndem Grade kuglig oder kolbig angeschwollene farblose Hyphe dar, welche gewöhnlich seitlich aus einem zarten vegetativen Faden ihren Ursprung nimmt und deren kopfige Anschwellung allseitig oder bloß in ihrem oberen Teile von radial gestellten oder auch scheitelwärts gerichteten schlauch- oder flaschenförmigen, stets einfachen Sterigmen besetzt ist; die von diesen erzeugten, stets leicht ihren Zusammenhang verlierenden Conidien bedecken das Köpfchen in meist dichtgedrängten, kettenförmig gereihten, farbigen Massen [1]).

Das sich daraus ableitende Bild läßt als Wesentliches zunächst das gefärbte, mit einfachen, mäßig langen Sterigmen versehene Köpfchen hervortreten, während im übrigen bezüglich der Bau- und Größenverhältnisse merkliche Schwankungen stattfinden. Auf diese ist hier etwas näher einzugehen.

Sehr variabel ist zunächst die Größe des ganzen Gebildes mit Einschluß der verschiedenen Teile; neben stattlichen, mehrere Millimeter hohen Exemplaren findet man solche von fast zwerghaftem Wuchse, deren Länge auf Bruchteile von mm herabgeht und gelegentlich nur $^1/_5$—$^1/_{10}$ jener beträgt, während andere wieder alle zwischen beiden liegenden Werte aufweisen können. Immerhin dürfen wir als normale Exemplare wohl nur die besser entwickelten betrachten, ohne dabei jedoch berechtigt zu sein, die davon abweichenden ganz zu übersehen, denn in Wirklichkeit findet man diese sehr häufig und reichlich in allen Kulturen, zumal etwas vorgeschrittenen Alters. Hieraus sowie insbesondere aus der Thatsache der bereits in den Einzelheiten fertigen Ausgestaltung dieser (gelegentliche starke Wandverdickung u. a., cf. Fig. 13) folgt aber, daß wir es nicht etwa mit noch unentwickelten jungen Exemplaren zu thun haben.

Nach einer Erklärung dieser Erscheinung zu suchen, erachte ich für müßig; naturgemäß sind günstige Entwickelungsbedingungen für die Ausbildung stattlicher Formen Voraussetzung, wenn aber trotzdem unmittelbar neben ihnen abweichende, dürftigere auftreten, so beweist das, daß hier auch noch andere Dinge in Betracht kommen. Im allgemeinen sind nun auch Gestalt und Bau der größeren etwas andersartig, denn vorzugsweise sind sie es, welche eine mehr kuglige, allseitig von Sterigmen besetzte Blase aufweisen, während die kleinen Formen durch eine keulige Blase mit wenigen, oft nur oberseits inserierten Sterigmen ausgezeichnet sind [2]). Bei Nicht-

1) In Präparaten findet man — worauf oben bereits hingewiesen — das Köpfchen nur mit mäßig zahlreichen Conidien unregelmäßig bedeckt und die Ketten stets in ihre Glieder zerfallen.

2) Diese stimmen (bis auf die Conidien) fast ganz mit den ähnlichen, dürftigeren Trägern des A. glaucus überein, wie sie de Bary abbildet (Botan. Ztg. 1854. Taf. XI.). Auf die Vielgestaltigkeit des conidienbildenden Apparats wurde von diesem auch be-

beachtung dieser Unterschiede könnte man gelegentlich in die Lage kommen, derartig verschiedene Gebilde innerhalb desselben Präparates als verschiedenen Species angehörig zu betrachten; es zeigt aber nur, wie mannigfach die Ausgestaltung der Conidienträger selbst innerhalb derselben Art sein kann — ein von den Diagnosen zur Zeit noch weniger beachteter Umstand.

Der Stiel des Conidienträgers ist (der Länge entsprechend) von variablem Durchmesser, für den sich leichter eine untere und obere Grenze als ein richtiger Mittelwert angeben läßt, immerhin ist er gewöhnlich ein beträchtlicherer als der der vegetativen Hyphen. Die Wand ist im allgemeinen mäßig verdickt, bald stärker, bald weniger ins Auge fallend und stark lichtbrechend; gewöhnlich ist sie glatt, aber gelegentlich auch — und das sei hervorgehoben — rauh durch feine Körnchenausscheidung in der für A. flavus charakteristischen Weise; man beobachtet diese feinwarzige Oberfläche mehrfach an sehr starken Trägern, jedoch ohne Regelmäßigkeit (cf. Fig. 13), und der dafür bestimmende Grund — unstreitig handelt es sich um feste Ausscheidungsprodukte — ist einstweilen nicht anzugeben, wennschon bemerkt sein mag, daß die Erscheinung besonders bei Kultur auf Zuckerlösung hervortrat.

Von der Basis bis zur Spitze erweitert sich auch hier der Stiel gewöhnlich um ein Gewisses (bis auf das Doppelte des Durchmessers); nicht selten kommt es — obschon es gewöhnlich einzellig — zur Bildung vereinzelter oder zahlreicher Querwände, die aber offenbar für diese Art ebensowenig etwas Charakteristisches sind, wie für die von einigen älteren Autoren beschriebenen und abgebildeten [1]); ihr Auftreten ist gleichfalls von noch ganz unbekannten Ursachen abhängig, und darf einstweilen wohl als rein „zufällig" angesehen werden.

Die terminale Anschwellung ist bei größeren Exemplaren gewöhnlich fast rein kugelig (Fig. 8), obschon nicht ganz scharf vom Stiele abgesetzt; in anderen Fällen ist der Uebergang allmählicher (Fig. 7, 9, 13), so daß Keulenform resultieren kann, und bei kleinen Formen sinkt sie selbst auf sehr geringe Maße (Fig. 1 *a*). Im allgemeinen (d. h. bei größeren Exemplaren) ist ihr Durchmesser doppelt oder dreimal so groß (Fig. 1 *b*) als der des Stieles (wie bei A. glaucus), ihre Wand mehr oder weniger derb und ohne merkliche Rauhigkeiten.

Kugelige Blasen pflegen allseitig dicht von Sterigmen bedeckt zu sein, während bei mehr hervortretender Keulenform sich jene mehr nach oben ziehen und im äußersten Falle (bei zarten Exemplaren) ausschließlich die Kuppe besetzen (Fig. 1). In diesem Falle sind sie gewöhnlich aufrecht gerichtet (pinselartig), während sie bei normalen wohl ausgebildeten Exemplaren gewöhnlich radial ausstrahlen

---

sonders hingewiesen. Uebrigens haben wir es bei jenen kleineren Formen nicht ausschließlich mit accessorischen (neben den typischen) Conidienträgern im Sinne Wilhelm's („Beiträge zur Kenntnis d. Pilzgattung Aspergillus". 1877) zu thun, wie schon das Fehlen von Querwänden anzeigt.

1) So für A. griseus Link und macrosporus Bon. (Bonorden, „Handbuch der allgem. Mykologie". Stuttgart 1851. Taf. IX. Fig. 188 und 193); im übrigen zwei recht zweifelhaften und kaum zu identifizierenden Arten.

oder doch weniger ausgesprochen nach oben gerichtet sind, obschon auch dieses vorkommen kann und dem Köpfchen alsdann einige Aehnlichkeit mit dem freilich weit zarteren von A. fumigatus giebt.

Bezüglich der Sterigmen ist die Form und relative Länge bemerkenswert, so daß sie sich immerhin von denen des A. glaucus — wo sie kurz, gedrungen — merklich unterscheiden und auch nicht leicht mit denen anderer, sonst ähnlicher Arten verwechselt werden können. Verzweigungen habe ich normalerweise nie beobachtet; Basis und Spitze sind gewöhnlich etwas verschmälert und die allmähliche Abgliederung der Conidien ist bei weniger dichtem Stande leicht zu verfolgen. Bei größeren Köpfchen entspricht ihre Länge annähernd einem Drittel oder der Hälfte des Blasendurchmessers (also ungefähr dem ganzen des Stieles), während sie bei kleinen keulenförmigen Trägern denselben übertreffen kann; ihre absolute Größe bleibt also wenigstens annähernd dieselbe, ebenso das Verhältnis der Länge zur Dicke (1 : 3).

Bemerkenswert erscheinen endlich die Conidien. Ihre Größe — seltener die durchweg kugelige Form — variiert in allen Kulturen in der bereits oben für die Kojiconidien genannten Weise; man findet also kleinere neben sehr großen, sie um ein Mehrfaches des Durchmessers übertreffenden; teilweise mögen erstere jünger sein, oder auch letztere entsprechendenfalls durch nachträgliches Wachstum die erheblicheren Dimensionen angenommen haben. Wichtiger aber erscheint die Thatsache, daß die Membran bald glatt, bald feinwarzig ist. Verwiegend traten in allen Kulturen die ersteren auf, so daß man auf Grund dieses Befundes ohne genaueres Nachsuchen der Species glatte Conidien — wie das auch von Schröter geschah — zugeschrieben hätte, trotzdem das Originalmaterial (die Kojikörner) so gut wie fast ausnahmslos ein feinwarziges Exospor aufwies. Die Ursache dieser Erscheinung, die übrigens auch de Bary bei A. glaucus bereits bespricht, lassen wir dahingestellt; es handelt sich aber voraussichtlich, wie auch in anderen Fällen, um die wenig regelmäßige Erzeugung eines körnigen Ausscheidungsproduktes, dessen Bildung von den Wachstums- und speziell Ernährungsbedingungen mit abhängig sein mag, denn Altersunterschiede allein kommen dabei nicht in Betracht, da man massenhaft auch große, stärker gefärbte (ältere) Conidien mit glatter Wand neben vereinzelten feinwarzigen (und zwar auch in denselben Kulturen nebeneinander) findet. Die Erscheinung entspricht also ganz jener gleichen, für die Außenwand der Conidienträger erwähnten — wir haben bald glatte, bald körnige Membranen vor uns und nehmen — ohne uns in weitere Erklärungsversuche zu verlieren — die Thatsache einstweilen als solche hin. Der diagnostische Wert des einen oder anderen sinkt damit aber beträchtlich, denn unstreitig bleibt es gewagt, auch in anderen Fällen ein Merkmal als ein wesentliches auszugeben, das nachgewiesenermaßen einer merklichen Inkonstanz unterwerfen ist. Wenigstens trifft das zunächst in besonderem Maße für unsere Species zu; inwieweit für verwandte, bleibt noch zu zeigen, darauf ist a. a. O. zurückzukommen.

Trotz der schwankenden Größe läßt sich für die Conidien doch immerhin ein entsprechendes mittleres Maß gewinnen. Die sehr kleinen (3—4 μ) sind in der Minderzahl, während die Mehrzahl einen Durchmesser von über 5 μ zeigt und dieser gewöhnlich zwischen 6 und 7 μ liegt, in einigen Fällen auch auf 9 μ steigt. Das stimmt mit der Angabe von Büsgen, aber nicht mit der von Schröter, welcher ihn zu 3—4 μ normiert. Diese Zahl ist aber unstreitig um ungefähr die Hälfte zu niedrig gegriffen, und unsere Species ist eine der wenigen „großsporigen" Arten, deren Conidien das Maß von 5 μ merklich überschreiten; gerade dieserhalb lege ich der Thatsache einiges Gewicht bei, denn die Species tritt dadurch wieder in Vergleich mit A. flavus und glaucus, unterscheidet sich aber in dieser Beziehung von dem Gros der anderen, bisher gut bekannten Arten (Conidienmaße 2,5—5 μ).

Von de Bary (l. c.) wurden seinerzeit allerdings Bedenken gegen das Nutzbringende von Messungen der einzelnen Teile geltend gemacht, wie denn auch Wilhelm (l. c.) auf die erheblichen Schwankungen in den Größenverhältnissen hinwies. Ich stimme dem im ganzen bei, ohne jedoch andererseits die Notwendigkeit derartiger Ermittelungen ganz in den Hintergrund zu rücken. Freilich sind die Unterschiede in der Größe der Conidienträger unserer Art sehr erheblich, andererseits existiert aber doch im ganzen eine obere Grenze und auch ein brauchbarer mittlerer Wert für besser ausgebildete Exemplare, so daß wir zur Erlangung eines richtigen Bildes keineswegs ganz von Messungen absehen dürfen, zumal auch gewisse Aspergillus-Species durchschnittlich ausgesprochen schwachwüchsig sind, während andere wieder — und unter diesen die vorliegende — zu den Arten mit im ganzen stattlichen Sporenträgern zählen. Bei diesen letzteren differiert untereinander allerdings die Größe unerheblich und wir können dieselbe hier als unterscheidendes Merkmal kaum verwerten. Andererseits sind aber Messungen gewisser Teile — wie schon bei den Conidien betont wurde — unbedingt geboten.

Fassen wir das Wesentliche der morphologischen Merkmale kurz zusammen, so erhalten wir also folgendes diagnostisch wichtige Bild:

Conidienträger von recht variabler Größe und Gestalt, im allgemeinen aber stattlich und bereits mit bloßem Auge leicht wahrzunehmen (bis 3 mm lang); ihr Stiel, meist ohne Querwände, von wechselnder Dicke (10—30 μ), mit im allgemeinen merklich verdickter, glatter, seltener feinwarziger Wand; Blase kugelig oder keulig, an Durchmesser bis ca. zum Dreifachen jenes des Stieles erreichend, wie dieser, farblos und oft derbwandig (bei größeren Exemplaren 60 bis 80 μ im Durchmesser, mit einer Wanddicke bis 0,3 μ), allseitig oder nur oberhalb von radial gestellten oder mehr aufrechten, länglichen, einfachen Sterigmen bedeckt, deren Länge gewöhnlich nicht unter $^1/_3$ des Blasendurchmessers herabgeht und deren erheblich hinter der Länge zurückstehende Dicke der der Conidien annähernd gleichkommt (abweichend insbesondere auch von A. glaucus!). Conidien kugelig, ansehnlich (durchschnittlich 6—7 μ), gefärbt (gelb bis grünlich), glatt oder feinwarzig (in Präparaten meist isoliert, ohne kettenförmigen Zusammenhang), bei intaktem Materiale lange Ketten bildend.

Damit darf die Species morphologisch dann als hinreichend scharf gekennzeichnet angesehen werden[1]).

Mycel und Entwickelungsgeschichtliches.

(Fig. 10, 12, 14—17 der Tafel.)

Ueber das mikroskopische Aussehen des Mycels dürfen wir kurz hinweggehen; es bietet nichts Besonderes und stimmt ziemlich mit dem anderer Arten überein: Farblose, glatte, septierte und reich verzweigte, zarte und derbwandige Fäden wechselnder Dicke (3—9 μ) ohne auffälligen Inhalt, die auch hier vielfach zu jenen von anderen Aspergillus-Species und auch von Bacterien[2]) bekannten tonnenförmigen Anschwellungen neigen. Solche kamen mir insbesondere bei Kulturen des Pilzes auf Zuckerlösung in den bezüglichen Präparaten zu Gesicht, ohne daß im übrigen ihr Auftreten gerade ein regelmäßiges genannt werden könnte; scheinbar betrifft es nur submers wachsende Fäden, und findet sich nicht an Luftmycelien, doch lasse ich das dahingestellt, wie ich auch auf eine von anderen Autoren gelegentlich versuchte Deutung der im einzelnen mannigfache Verschiedenheiten aufweisenden Gebilde verzichte (Fig. 15).

Die Entwickelung des Mycels aus der Conidie, sowie die Entstehung und allmähliche Ausbildung der Conidienträger an diesen bietet gleichfalls nichts von bereits bekannten Fällen Abweichendes und sei beides nur der Vollständigkeit halber erwähnt.

Unter Abnahme des Lichtbrechungsvermögens und der Schärfe ihrer dunklen Conturen schwellen die in eine Nährlösung gelangenden Conidien stark an[3]) und treiben (schon nach 12—24 Stunden) in der Regel einen einzelnen hellen, zarten Keimschlauch (Fig. 14 *b*, *c*), welcher unter sonst günstigen Umständen bereits nach 2—3 Tagen ein reich verzweigtes junges, wolliges Mycel gebildet hat, aus dem alsbald reichlich Conidienträgeranlagen hervorsprossen. So findet man auf Zuckerlösungen im Wärmschranke (35° C) nach 3—4 Tagen schon zarte, feinwollige Decken mit jungen, gelben Sporenköpfchen in reichlicher Zahl. Die erste Anlage des Conidienträgers ist auch hier ein meist als seitliche Ausstülpung einer horizontalen Hyphe sich vertikal stellender weitlumiger Schlauch, der unter Verdickung seiner Wand von unten her, an der Spitze fortwachsend, hier alsbald zu der kugeligen oder kolbigen Erweiterung anschwillt, die nunmehr sogleich die Sterigmen ausstülpt. Der ganze Vorgang verläuft ziemlich rasch und ebenso rasch be-

---

1) Die ganze Schröter'sche Diagnose (l. c. p. 215) lautet: „Fruchtkörper unbekannt. Luftmycel weit verbreitet, weiß. Conidienrasen anfangs weiß, später chromgelb, zuletzt gelbbräunlich. Conidienträger etwa 0,5 mm lang, 20 μ breit, farblos, glatt, am Ende kugelig angeschwollen. Conidien kugelig, 3—4 μ breit; Membran hellgelb, glatt." Auch von den Abweichungen abgesehen, ist sie zur Unterscheidung von anderen Species nicht als ausreichend zu betrachten.

2) So z. B. von Bacterium Pasteurianum Hans., wie es kürzlich noch von Hansen abgebildet wurde (Compte rendu d. travaux d. laboratoire de Carlsberg, T. III. liv. 3).

3) Dabei erreichen die größeren einen Durchmesser von 14 μ, die kleineren von ca. 5—7 μ (selbst bei Zimmertemperatur schon nach 24 Stunden). Es sei aber bemerkt, daß ich bei den den Keimungsvorgang betreffenden Versuchen (in verdünnter Zuckerlösung) bisher ein wirkliches Auskeimen nur an den größeren Conidien gesehen habe; es frägt sich also, ob thatsächlich sämtliche gleichmäßig keimfähig sind.

ginnt alsbald die Conidienabschnürung — günstige Wärmeverhältnisse vorausgesetzt und übrigens nach meinen Beobachtungen im ganzen etwas schneller auf Flüssigkeiten (Zuckerlösungen) als auf festen Substraten (gedämpftem Reis), obschon hier die vegetative Entwickelung eine üppigere ist. Neue Conidienträger sprossen alsdann noch weiterhin in großer Zahl hervor, so daß der Rasen anstatt der anfänglich weißen Farbe alsbald gleichmäßig gelb, gelblich-braun oder grünlichgelb bez. grünlich erscheint.

Von der späteren Verfärbung in schmutzig-braune oder graue Töne abgesehen, vollziehen sich weitere Veränderungen nicht, denn die auch hier nicht selten zu beobachtenden mannigfachen Mißbildungen der Conidienträger in der für andere Arten bereits beschriebenen Weise bedürfen kaum der Erwähnung (Auswachsen der Sterigmen in Fäden oder neue Köpfe, Gabelung des Stieles [Fig. 16] und anderes). Es kommt also nie — und das ist wesentlich — zur Entwickelung fruchtartiger Gebilde von Perithecien- oder Sklerotiencharakter, wenigstens habe ich derartiges unter den verschiedenen Kulturbedingungen nie beobachtet, obschon ich eine größere Zahl von Vegetationen unter andauernder Beaufsichtigung monatelang und länger in Kultur hielt.

Physiologisches.

Es sollen hier kurz noch einige Punkte berührt werden, welche die Wachstumstemperatur, Dauer der Keimfähigkeit der Conidien, etwaige Gärwirkung und den Wert einzelner Substrate für Kulturzwecke betreffen.

Die bereits unmittelbar nach der Abschnürung keimfähigen Conidien zeichnen sich durch eine ausgesprochen lange Dauer der Keimfähigkeit aus. Ohne Unterschied des Alters liefern meine verschiedenen Kulturen immer wieder geeignetes Aussaatmaterial und selbst die nunmehr zwei Jahre alten Kojikörner weisen noch so reichlich keimfähige Sporen auf, daß ein merklicher Unterschied gegen jüngeres Material nicht hervortritt, auch die Keimungs- und Wachstumsenergie eine nachteilige Beeinflussung nicht wahrnehmen läßt. Diese Thatsache gilt keineswegs für alle Aspergillus-Arten, denn die Conidien einiger büßen bereits nach 6—10 Monaten ihre Entwickelungsfähigkeit ein, obschon die anderer sehr resistent sein sollen[1]), worin übrigens Auffallendes auch ja nicht liegt.

Die Entwickelung vollzieht sich sowohl bei Zimmertemperatur (Winter und Sommer ohne Unterschied), wie im Wärmkasten, d. h. bei ca. 13° wie bei 30—40° C, allerdings mit verschiedener Schnelligkeit, und im ersten Falle wesentlich langsamer als bei Wärmegraden über 20° C, so daß das Optimum relativ hoch liegt (einige 30° C) und die Art dadurch wieder von A. glaucus merklich abweicht. Temperaturen über 30° C sind übrigens nicht unter allen Umständen gerade vorteilhaft und jedenfalls bei Verwendung von Reis, Stärkekleister oder ähnlicher Stoffe als Substrat nur nach sehr sorgfältigem

1) Die von A. nidulans keimten nach Eidam noch nach 10 Jahren. Jedenfalls genügt aber ein Jahr und weniger, um die von A. niger, glaucus und Ostianus so gut wie ganz ihre Entwickelungsfähigkeit einbüßen zu lassen.

wiederholtem Sterilisieren der Aussaatgefäße von Nutzen, da sie anderenfalls regelmäßig durch späteres massenhaftes Bakterienauftreten mißglücken. Weit bequemer kultiviert man bei höheren Temperaturen auf Zuckerlösung (3—20%) mit anorganischen Nährsalzen (Phosphat und Nitrat), die von dem Pilze ohne Schwierigkeit verarbeitet werden, wenngleich ein festes stärkemehlreiches Substrat im allgemeinen zwar eine etwas üppigere Vegetation ergiebt. Bei Zimmertemperatur ist das Wachstum auf zuckerhaltigen Flüssigkeiten — worauf oben bereits hingewiesen — freilich nur langsam und daraus mag sich auch die Angabe Ahlburg's, der ihn auf diesen wie gewissen anderen Substanzen nur schlecht wachsen sah, erklären. Als immerhin noch geeignetes Substrat darf auch Bierwürze gelten, wohingegen meine Erfolge mit einem Rosinendekokt, selbst bei Optimaltemperatur, weniger zufriedenstellend waren. Gelegentlich siedelt der Pilz sich an Orten, wo er in Kultur gehalten wird, spontan auf offenstehenden Zuckerlösungen an, und bildet hier langsam sich ausbreitende, dichte, gelbe bis braungelbe Rasen mit stattlichen Conidienträgern. Säuerliche Flüssigkeiten (freie Säure) meidet er jedoch — im Gegensatz zu A. niger — obschon saure Salze ihn im allgemeinen nicht stören. Veränderungen besonderer Art — reichliche Erzeugung organischer Säuren, von Alkohol u. a. — bewirkt er in Zuckerlösungen nicht, so daß er sich in dieser Beziehung den meisten anderen Aspergillus-Species anschließt[1]).

Sein Vermögen, auf stärkemehlhaltigen Substraten eine sehr wirksame Diastase zu produzieren, ist zu bekannt, um hier noch besondere Erwähnung zu finden, und sei dazu nur noch folgendes bemerkt. Derartige Versuche im Kleinen mißlingen sehr häufig; der Pilz entwickelt sich allerdings zu einer üppigen Decke auf der Oberfläche des Substrats (Reis, Stärkekleister) und verzuckert (verflüssigt) auch die oberen Schichten desselben, doch bleibt die Hauptmasse auch nach Wochen noch unverändert. In Hinblick auf den im Großen sich so leicht vollziehenden Prozeß erscheint das vielleicht befremdend, zumal das Arbeitsverfahren bei kleineren Versuchen doch wohl im ganzen sorgfältiger als bei Operationen im großen Maßstabe ist. Der Grund liegt aber zunächst in dem bereits oben erwähnten Punkte, denn gewöhnlich sind in solchen, insbesondere bei höherer Temperatur angestellten Experimenten, massenhaft Bakterien vorhanden, welche ihrerseits die Thätigkeit des Pilzes, wie es scheint, durch Schädigung unterbrechen, denn bei frühzeitiger Massenentwickelung derselben stellt das junge, die Reiskörner umspinnende Mycel sein Wachstum überhaupt ein und gelangt nicht einmal zur Conidienbildung; fällt der Zeitpunkt des Ueberhandnehmens der Bakterien etwas später, so weist das verfärbte matte Aussehen der schon vollendeten Decke alsbald auf sich schnell vollziehende Absterbeerscheinungen hin. Ein

1) Korschelt hält die Möglichkeit offen, daß die alkoholische Gärung der von dem Pilze verzuckerten Flüssigkeiten unter seinem Einflusse erfolgt (l. c.), derselbe also auch die hierbei thätige Hefe erzeugt. Bisher habe ich Bildung von Sproßzellen an seinen Hyphen jedoch nicht beobachtet. Gelegentliche Gärungserscheinungen (Gasentwickelung) in zuckerhaltigen Medien ließen sich immer auf Fremdorganismen (Verunreinigung durch Bakterien) zurückführen.

Ausschluß derselben ist nur durch wiederholte sorgfältige Sterilisation vor der Aussaat zu erreichen. Wenn man im Großen aber hiervon absehen darf, so hat das wohl im wesentlichen seinen Grund in dem Arbeitsverfahren überhaupt, welches insofern abweicht, als hier nur die einleitenden Phasen des Prozesses bei höherer Temperatur sich vollziehen (schnelle Entwickelung erheblicher Mycelmengen auf den Reiskörnern), die weiteren jedoch bei niederer Temperatur ausgeführt werden. Wenn man da also die Mycelentwickelung bei günstigerer Wachstumstemperatur nach Angabe vor der Sporenbildung[1]) unterbricht, so mag das weniger seinen Grund in der für die Operation ja ziemlich belanglosen Conidienerzeugung haben, als vielmehr in der erfahrungsmäßig festgestellten Thatsache, daß eine Unterbrechung nach einer bestimmten Zeit — die hier vielleicht rein zufällig durch den Beginn jener gemessen wird — vorteilhaft oder notwendig ist. Versuchsmäßig läßt sich dementsprechend auch konstatieren, daß infizierte junge Kulturen bei rechtzeitiger Entfernung aus dem Wärmkasten sich immerhin allmählich merklich wieder erholen und das vorher erschlaffte Aspergillus-Mycel die vordem stillstehende Vegetation wieder aufnimmt, um nach längerer Zeit selbst zur Conidienbildung zu schreiten. Als störende Ursache kommen hiernach besonders Bakterienformen[2]) mit höher liegendem Wachstumsoptimum in Betracht.

Endgiltig seien hier vergleichsweise die Größenverhältnisse noch einmal übersichtlich zusammengestellt.

Vegetative Hyphen . . .	3—9 μ dick (Grenzwerte).
Conidienträger	bis 3 mm lang (i. M. 1—2 mm, doch bis 0,3 mm herab).
Köpfchendurchmesser . .	bis 120 μ.
Blasendurchmesser . . .	50—80 μ i. M. (bei kleinen Exempl. in allen Werten).
Stieldurchmesser	10—30 μ.
Wanddicke desselben . .	0,2—1 μ.
Sterigmen	12—20 μ lang, 4—5 μ dick.
Conidien	6—7 μ i. Dm. (mittlerer Wert).

Hannover, Dezember 1894.

Techn.-Chem. Laboratorium d. Techn. Hochschule.

Figurenerklärung.

Fig. 1. Drei Conidienträger von einer Gelatineplatte; *a* und *c* mit schwachem System in situ gezeichnet, *b* im opt. Durchschnitt. Variieren der Blasenform und Sterigmenzahl. Die Abschnürung der Conidien in langen Ketten tritt bei *a* und *c* deutlich hervor. Natürliche Größe 0,4—0,5 mm. — Vergr.: 150/1 [3]).

---

1) Welche ihrerseits durch die Temperatur wesentlich beeinflußt wird und bei niederen Wärmegraden (10—15 ° C) merkliche Verzögerung erleidet.

2) Vorzugsweise trifft man lebhaft bewegliche, feine Stäbchen mit mittel- oder endständiger Spore, über deren Identität mit etwaigen in Betracht kommenden Formen noch nichts Sicheres ausgesagt werden kann.

Uebrigens wurde auf den störenden Einfluß von Bakterien auch von anderen Untersuchern (Delbrück) bereits hingewiesen. Bei anderen Aspergillus-Arten kommt derselbe nur selten zur Geltung. Bei den in Nordamerika angestellten Versuchen im Großen sollen Spaltpilze gleichfalls sich als hinderlich erwiesen haben.

3) Diese Zahlen beziehen sich selbstverständlich auf das Größenverhältnis zwischen Bild und Objekt.

Die Abbildungen 2—6 beziehen sich auf japanisches Kojimaterial.

Fig. 2. Oberer Teil eines größeren Conidienträgers nach Eintauchen in Alkohol, Abwaschen etc. unter Deckglas in Chlormagnesium-Lösung liegend — wie auch die entsprechenden weiteren Präparate — mit Zeichenspiegel entworfen[1]). (Seibert, Ocul. II, Syst. V.) Vergr.: 250/1.

Fig. 3. Kleinerer Conidienträger desselben Präparats mit wenig zahlreichen und nur den oberen Teil der derbwandigen Blase bedeckenden Sterigmen. An den (meist abgefallenen) Conidien tritt bei dieser Vergrößerung die feinwarzige Außenwand deutlich hervor (mit Zeichenspiegel entworfen; Ocular II, System V.) Vergr.: 500/1.

Fig. 4. Großer Conidienträger aus dem gleichen Präparate mit beschädigtem, in den Einzelheiten undeutlichem Kopfe. Der Stiel ist hier erheblich dünnwandiger, aber weitlumiger und mit feinen hellen Körnchen dicht bedeckt. (Zeichenspiegel, Ocul. II, Syst. V.) Vergr.: 300/1.

Fig. 5. Junges Stadium eines schwachwüchsigen Trägers (desselben Präparats), wo die Sterigmenausstülpung soeben begonnen. Vergr.: 300/1.

Fig. 6. Eine Gruppe von Conidien des gleichen Präparats, mit ausnahmslos feinkörniger Wand. (Zeichensp., Ocul. III. Syst. V.) Vergr : 700/1.

Die folgenden Abbildungen beziehen sich auf Kulturmaterial (von Zuckerlösung, Reis, Stärkekleister).

Fig. 7. Blasen verschiedener Form (keulenförmig bis kugelig) aus einer auf Zuckerlösung kultivierten Decke. Vergr.: 120/1.

Fig. 8. Großer, derbwandiger, älterer Conidienträger mit normal entwickelter Blase, welche dicht mit radial gestellten Sterigmen besetzt ist (auf Zuckerlösung gewachsen). Optischer Durchschnitt. Vergr.: 100/1. (*a* zeigt das Verhältnis zwischen Wanddicke und Stieldurchmesser.)

Fig. 9. Oberer Teil eines größeren Trägers aus einer jüngeren Kultur auf Zuckerlösung, mit schwächer entwickelter keuliger Blase. (Opt. Durchschnitt.) Vergr. 100/1.

Fig. 10. Junge Träger aus der gleichen Kultur; der eine zeigt die beginnende Sterigmenausstülpung. Vergr.: 120/1.

Fig. 11. Gruppe glattwandiger Conidien desselben Präparats. (Mit Zeichenspiegel entworfen. Ocul. II, Obj. III.) Vergr.: 600/1.

Fig. 12. Vegetative Hyphen verschiedener Dicke; *a* und *b* aus Zuckerlösung (3—5 μ im Durchmesser), *c* von Kojikörnern (8—9 μ im Durchmesser). Vergr. 250/1.

Fig. 13. Aelterer Träger geringerer Größe aus einer Stärkekleisterkultur, welcher abweichend vom Durchschnitte eine feinkörnige Stielmembran zeigt (wie Fig. 4). Die Blase ist keulenförmig und nur auf der Kuppe von Sterigmen mit glatten Conidien besetzt. (Zeichenspiegel; Ocul. II. Syst. V.) Vergr.: 500/1.

Fig. 14. Conidienkeimung in verd. Zuckernährlösung, 24 Stunden nach Aussaat. *a* = Quellungsstadium, *b* und *c* = Austreiben des Keimschlauches (ohne sichtbare Durchbrechung der Sporenwand), *d* = dasselbe, nach Kontraktion des Plasmas mittelst Salzlösung. (Opt. Durchschnitt.) Vergr.: 500/1.

Fig. 15. Hyphenanschwellung innerhalb der Nährlösung bei einer auf Zuckerlösung gewachsenen Decke. Vergr.: 250/1.

Fig. 16. Conidienträgermißbildung. Gabelung des Stieles. Vergr.: 50/1.

Fig. 17. Junge Rasen des Pilzes, schwach vergrößert (2/1).

---

1) Gleiches gilt für die übrigen stärker vergrößerten Bilder, so daß die Dimensionen der einzelnen Organe unmittelbar vergleichbar sind. Eine wirklich genaue Wiedergabe dieser Verhältnisse durch freien Entwurf ist schwierig, die Bilder werden mehr oder weniger schematisch, wenn auch in der Ausführung im ganzen ansprechender. Andererseits liefert die photographische Reproduktion von diesen Dingen Abbildungen, die an mancherlei Mängeln leiden, auch wo sie im einzelnen gelegentlich wohl noch etwas genauer sind. Wie sehr ihnen aber Klarheit und Schärfe der Handzeichnungen abgeht, erhellt zur Genüge aus den mehrfach bereits vorliegenden Reproduktionen der Hyphen und Sporenträger von Aspergillen und Mukorineen. Selbstverständlich soll damit aber kein absprechendes Urteil über den Wert der Photographie in dieser Richtung überhaupt ausgesprochen werden; erforderlich ist es jedoch, das morphologische Detail entsprechendenfalls durch scharfe Strichzeichnung zu ergänzen, um die Abbildung dem vom Auge gesehenen Bilde wirklich ähnlich zu machen oder speziellere für den vorliegenden Fall gerade wichtige, in der Photographie nicht zum Ausdruck kommende Punkte genügend hervortreten zu lassen. Das gilt aber unbedingt für Mucor- und Aspergillus-Köpfe.

1. a b c 2. 5. 4. 7. 3. 6. 9. 11. 14. a d a b 10. c 8. 15. 12. c a b 17. 16. 13.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Ueber Nachweis und Verbreitung der Glukase, das Enzym der Maltose.

Von

Dr. M. W. Beyerinck.

Mit 1 Figur.

Bei der enzymologischen und botanischen Besprechung eines Enzymes wie die Glukase, worüber noch so wenige Untersuchungen vorliegen und dessen Nachweis bisher mit erheblichen Schwierigkeiten verbunden war, dürfte es nicht überflüssig sein, einige Bemerkungen über die amylolytischen Enzyme im allgemeinen sowie über die Methoden der Hydrodiffusion im festen Substrate und der Auxanographie, wodurch die Untersuchung jener Enzyme und ihrer Umwandlungsprodukte so außerordentlich vereinfacht wird, und welche bisher noch nicht die gebührende Berücksichtigung durch andere Forscher gefunden haben, vorauszuschicken. Ich werde dabei einige Ergebnisse, welche erst im späteren Teile dieses Aufsatzes begründet werden, schon vorgreifend berücksichtigen, auch werden einige Erfahrungen berührt werden, welche hier nicht näher erwiesen sind, deren Nachweis nach unserer Methode jedoch so einfach ist, daß jeder dieselben leicht wird kontrollieren können. In Bezug auf die hier zu befolgende Nomenklatur dieser verschiedenen Körper wünsche ich zu bemerken, daß es sehr empfehlenswert ist, nach dem Beispiele der französischen Forscher das Wort „Amylase“ als Kollektivnamen für sämtliche stärkespaltenden Enzyme zu verwenden, und den Namen „Granulase“ als partiellen Kollektivnamen für diejenigen Amylasearten, welche aus Stärke zu gleicher Zeit Maltose und Achroodextrin erzeugen. Durch einen Blick auf die Tabellen wird man sofort sehen, wie nötig und nützlich diese Verbesserung der Nomenklatur ist. Ich hätte es vorgezogen, hier den Namen „Dextrinase“ zu verwenden, doch ist dieses Wort schon in einem anderen und ganz bestimmten Sinne, und zwar für ein aus Malzamylase entstehendes, von Wysman entdecktes Kunstprodukt verwendet. — Für die Glukase werde ich unten die ältere Geschichte, welche, wie ich meine, im Deutschen noch nicht gegeben wurde, in Uebersetzung anführen, namentlich die Begründung von Cuisinier's Patent.

Daß ich überall das Richtige getroffen haben sollte, kann ich bei einer so verwickelten Untersuchung wie diese kaum hoffen. Und daß später etwa nachzuweisende Fehler einige Nachsicht beanspruchen, werden einsichtige Forscher wohl zustimmen.

Kapitel I.

Untersuchungsmethoden[1]).

Bei der Untersuchung der verschiedenen Amylasearten handelt es sich gewöhnlich um den Nachweis sehr kleiner Mengen. Da hier-

1) Ein für allemal verweise ich hier auf die Schrift: H. P. Wysman, De diastase beschouwd als mengsel van Maltase en Dextrinase. Amsterdam (Spin & Co.) 1889.

bei noch überdies oft Enzymgemische vorliegen, auch andere bekannte und unbekannte gewöhnliche organische Körper nicht fehlen, und da bei diesen Versuchen Bakterien leicht störend eingreifen können, so war es erwünscht, ein Verfahren ausfindig zu machen, wodurch es gelingt, die genannten Schwierigkeiten zu beseitigen. Von der Voraussetzung ausgehend, daß die Amylasen im Gegensatze zu der herrschenden Ansicht gut diffundierende Körper sind, erschien es, daß die Methode der Hydrodiffusion in stärkehaltigen Gelatineplatten zu wichtigen Ergebnissen würde führen können. Und diese Erwartung wurde durch die Erfahrung nicht getäuscht. Bei der Untersuchung der amylolytischen Vorgänge nach dem genannten Prinzipe kommen die drei folgenden Mittel und Wege zur Verwendung:

Erstens, die Hydrodiffusion in festem Substrate zur Trennung der Enzyme von ihren Trägern, sowie zu deren Trennung unter sich, fürsoweit sie überhaupt und mit ungleicher Geschwindigkeit diffundieren.

Zweitens, das gewöhnliche chemische Reaktionsverfahren im festen Substrate, z. B. die Jodreaktion für den Nachweis der Umwandlungsprodukte der Stärke, wie Achroodextrin und Erythrodextrin.

Drittens, das Mikrobienwachstum im festen Substrate (Auxanographie) zum Nachweise von Zuckerarten, wie Glukose und Maltose.

Da ich selbst schon früher die hier zunächst in Betracht kommende auxanographische Methode beschrieben habe[1]), und da die Methode der Hydrodiffusion in Gelatine, sowie die Jodreaktion im festen Substrate für die Diastase des Gerstenmalzes durch Herrn Wysman ausführlich untersucht und behandelt sind (l. c.), so kann ich hier zwar auf diese Arbeiten hinweisen, jedoch erscheint eine gedrängte Uebersicht der befolgten Methoden erwünscht.

1) Das Diffusionsverfahren.

Die Beschreibung eines Beispiels ist am besten geeignet, das Verfahren zu beleuchten. Wählen wir als solches den Nachweis der beiden Enzyme, welche sich im ungekeimten und im gekeimten Gerstenkorne vorfinden. Weizen und Roggen verhalten sich, beiläufig bemerkt, wie Gerste, ebenso Aegilops ovata, Hafer dagegen abweichend.

Man fertige eine 10-proz. Gelatinelösung in destilliertem Wasser an, füge ca. $^1/_2$ Proz. Kartoffelstärke, oder besser ebensoviel lösliche Stärke[2]) hinzu, erhitze einige Minuten auf dem Siedepunkte, gieße die Lösung zu einer sehr dünnen Schicht in eine Glasdose mit gut geebnetem Boden aus und lasse sie erstarren.

Das zu untersuchende gekeimte Gerstenkorn wird mit dem Rasiermesser senkrecht zur Längsachse in Querschnitte zerteilt und diese Querschnitte werden auf die Oberfläche der Gelatineplatte gelegt.

Die beiden Enzyme, die Maltase und die Granulase diffundieren

---

1) Archives Néerlandaises. T. XXIII. 1888. p. 367. (Baumgarten's Jahresber. Bd. V. 1889. p. 571. Siehe auch dieses Blatt. Bd. VIII. 1890. p. 618 und 651.)

2) Bereitet nach Lintner's Vorschrift, Journal für prakt. Chemie. 1886. p. 378.

aus den Querschnitten in die Gelatine hinein, wirken amylolytisch auf die Stärke und erzeugen dabei ein ohne weiteres sichtbares, cirkuläres Diffusionsfeld. Obschon die Malzamylase zwar schneller wie andere Amylasearten diffundiert, sich jedoch immerhin ziemlich langsam fortbewegt, nämlich mit ungefähr derselben Schnelligkeit, womit Dextrin und Pepton diffundieren, so ist es erwünscht, den Versuch zwei oder mehrere Tage fortzusetzen, damit das Diffusionsfeld ausgedehnt werde. Fürchtet man, daß der Querschnitt mit Schimmel oder Bakterien verunreinigt ist, so bringt man in die umgekehrt aufgestellte Dose eine kleine Schale mit Chloroform. Der Dampf dieses Körpers erfüllt den Raum und verhindert Mikrobienwachstum, ohne die diastatische Wirkung zu stören.

Maltase erzeugt aus Stärke Maltose neben Erythrodextrin, die Granulase dagegen Maltose und Achroodextrin. Da das Erythrodextrin sich mit Jodlösung rot färbt, so muß die Gelatinestärkeplatte, wenn sie mit Jod-Jodkaliumlösung übergossen wird, sich blau färben dort, wo kein Enzym hinzugetreten ist und rot dort, wo die Maltase allein eingewirkt hat. Da ferner die Maltase etwas schneller diffundiert wie das Erythrodextrin, so kann sich letzterer Körper nur innerhalb des Maltosediffusionsfeldes vorfinden, womit es die äußere Grenze gemeinsam hat. Eine absolute Identität zwischen der Maltase- und Erythrodextringrenze kann jedoch schwerlich da sein, denn es wird eine bestimmte Konzentration des Enzyms sowie eine bestimmte Einwirkungszeit davon auf die Stärke gefordert, um die Spaltung zu ermöglichen. Das Enzym dürfte deshalb bei der Diffusion immer ein wenig an das Erythrodextrin vorauseilen, was jedoch für unseren Zweck gleichgiltig ist.

Geht man nach genügender Diffusionszeit über zur Uebergießung der Gelatineplatte mit einer Lösung von Jod-Jodkalium, so bemerkt man die folgende Erscheinung:

Während die Platte sich übrigens blau färbt, findet man, daß das Diffusionsfeld der Malzamylase zweifarbig ist, und zwar im Innern farblos, und dieser farblose Zirkel wird durch einen violettroten Erythrodextrinring eingeschlossen. Der Erythrodextrinring ist sehr schmal bei den Querschnitten der gekeimten, sehr breit bei denjenigen der ungekeimten Getreidekörner.

Wysman hat nun nachgewiesen, daß diese Erscheinung folgenderweise erklärt werden muß: Die beiden im Malze enthaltenen Enzyme diffundieren mit ungleicher Geschwindigkeit; die Maltase eilt dabei der Granulase[1]) voraus, woraus folgt, daß, soweit die Granulase diffundiert ist, diejenigen Umwandelungen der Stärke stattgefunden haben müssen, welche darin durch die gleichzeitige Einwirkung der Maltase und Granulase zustande kommen. Da diese Endprodukte jedoch Maltose und Achroodextrin sind, so muß dieser, den beiden Diffusionsfeldern der Maltase und Granulase gemeinsame Teil, mit Jod farblos bleiben. Rings um dieses farblose Feld muß aber ein

---

1) Wysman hat hier das Wort „Dextrinase“ verwendet. Unten werde ich noch anführen, weshalb ich einen anderen Namen wählen mußte.

Ring vorkommen, wo nur die vorausgeeilte Maltase angekommen ist und die Granulase fehlt. Da aber die Maltase aus Stärke neben Maltose noch Erythrodextrin erzeugt, so muß dieser Teil sich mit Jod violettrot färben. Von der Maltose, welche bei diesem Versuche neben dem Erythrodextrin durch die Einwirkung der Maltase auf die Stärke entsteht, bemerkt man bei dieser Versuchsanstellung nichts, dieselbe diffundiert nach allen Seiten in die Gelatineplatte hinein. Die auxanographische Methode erlaubt aber eben die Maltose nachzuweisen. Die geringe Breite des Erythrodextrinringes beim gekeimten Getreidekorne, verglichen mit dem ungekeimten, rührt daher, daß der Keimling nur Granulase erzeugt, und die Maltaseproduktion aus dem Endosperm beim Keimprozeß nur wenig zunimmt. Uebrigens verweise ich bezüglich der interessanten Lokalisationsverhältnisse der Enzyme im Malzkorne auf Wysman's Schrift.

2) Die auxanographische Methode.

Für den Nachweis der Maltose und der Glukose, welche durch amylolytische Enzyme entstehen (unter bestimmten Umständen auch der Laktose und Saccharose und deren durch Laktase und Invertase gebildeten Inversionsprodukte), lassen sich bei der Anwendung der Diffusionsmethode mehrere Lebenserscheinungen der Mikrobien benutzen. Besonders zwei davon kamen zu näherer Untersuchung, nämlich, erstens, das *Wachstum* von bestimmten Mikrobien, welche dem festen Substrate in genügender Anzahl einverleibt sind, und, zweitens, die *Leuchtfunktion* der Leuchtbakterien. Da die Leuchtbakterien sowohl mit Maltose wie mit Glukose Licht erzeugen, so habe ich bei der Untersuchung der Glukase, wobei es sich eben um den differentiellen Nachweis dieser Zuckerarten im festen Substrate handelt, die Leuchtfunktionen nicht in erster Linie benutzen können, dafür aber das Wachstum von anderen Mikrobien, und zwar besonders von verschiedenen Hefearten, mit gutem Erfolge in Anwendung gebracht.

Unter den Hefen im weiteren Sinne giebt es besonders vier Gruppen, welche für diese Untersuchungsrichtung von Wichtigkeit sind, nämlich, erstens die *Glukosehefen*, das heißt die Arten, welche Glukose und Laevulose assimilieren, nicht aber Saccharose, Laktose, Maltose und Dextrin, z. B. S. apiculatus, und unter bestimmten Umständen auch Mycoderma cerevisiae und M. vini. Zweitens, die *Saccharosehefen*, welche Glukose, Laevulose und Saccharose assimilieren, nicht aber Laktose, Maltose und Dextrin, hierzu z. B. Saccharomyces fragrans. Drittens die *Maltosehefen*, welche Glukose, Laevulose, Maltose und gewöhnlich auch Saccharose, nicht aber Laktose und Dextrin assimilieren; hierzu z. B. S. cerevisiae, S. ellipsoideus, S. minor. Viertens, die *Lactosehefen*, welche Glukose, Laevulose, Saccharose und Lactose assimilieren, jedoch nicht Maltose und Dextrin; hierzu S. Kefyr und S. Tyrocola. Fünftens die *Polysaccharosehefen*, welche Glukose, Laevulose, Saccharose, Maltose und Dextrin wohl, Lactose aber nicht assimilieren; hierzu z. B. Mycoderma sphaeromyces und Saccharomyces acetaethylicus. Durch

Herbeiziehung von anderen assimilierbaren Stoffen, wie Glycerin und Natrium- oder Calciumacetat kann diese Stufenleiter von Hefen von absteigender Spezialisierung noch ausgedehnt werden, was aber für den gegenwärtigen Zweck unnötig wäre.

Wir sehen aus dieser Uebersicht, daß gewisse Hefearten sehr wählerisch in Bezug auf die dargebotenen Zuckerarten sind, und wir können diese Eigenschaft verwenden für den Nachweis der durch amylolytische Enzyme produzierten Körper. Für unseren gegenwärtigen Zweck, wobei es sich darum handelt, Glukose als Produkt der Umwandelung von Maltose nachzuweisen, kommen zunächst die Glukosehefen in Betracht, welche Glukose assimilieren und damit wachsen, jedoch Maltose unberührt lassen. Werden dieselben mit genügender Einsicht für auxanographische Versuche verwendet, so können damit sehr überzeugende und demonstrative Resultate erhalten werden und unwägbar geringe Mengen Glukose bei Gegenwart von Maltose, Dextrin, Stärke und zahllosen anderen organischen Körpern mit vollständiger Sicherheit nachgewiesen werden. Es sei vorher bemerkt, daß alle von mir untersuchten Hefen und Bakterien nicht imstande sind, Enzyme an sich direkt zu assimilieren, und, sei es als Stickstoff oder als Kohlenstoffquelle zu verwenden. Ich habe dieses mit vieler Sorgfalt festgestellt, weil der Wert meiner Methode davon offenbar abhängig ist, und zwar auf folgende Weise: Wenn ein Amylasediffusionsfeld sich in einer Platte von Nährgelatine bildet, worin dasselbe durch ein wenig lösliche Stärke sichtbar gemacht wird, so muß dasselbe zirkelrund werden, wenn die Gelatineplatte gleichmäßig dick ist und die Diffusion von einem Punkte oder Zirkel ausgeht. Wird nun im Bereiche dieses Diffusionsfeldes eine Kolonie oder ein Impfstrich der zu untersuchenden Hefeart oder Bakterie gelegt in der Weise, daß das Enzym darunter bei der Diffusion passieren muß, so wird das Diffusionsfeld rund bleiben, wenn das Enzym nicht absorbiert wird, dagegen wird selbst das geringste Maß der Absorption oder Assimilation des Enzyms durch die Kolonie zu einer Abplattung oder anderweitigen, zuvor bestimmbaren Formveränderung des Diffusionsfeldes Veranlassung geben müssen. Läßt man nun in der Nährgelatine die Stickstoffquelle fort unter Beibehaltung des Kohlehydrates, so ergiebt sich, daß die Hefen (und Bakterien) das Enzym nicht als Stickstoffquelle benutzen können; läßt man das Kohlehydrat weg unter Beibehaltung der Stickstoffnahrung, so findet man, daß das Enzym auch nicht als Kohlenstoffquelle fungieren kann. Das Resultat stimmt damit, daß im tierischen Organismus das Ptyalin und die Pankreasdiastase mit dem Urine abgesondert werden, und daß bei den höheren Pflanzen die einmal vorhandene Diastase sehr hartnäckig in dem Gewebe zurückbleibt.

Zu den allbekannten Hefearten, welche für den Nachweis von Glukose vermittelst der auxanographiscnen Methode Verwendung finden können, gehören, wie gesagt, der Kahmpilz (Saccharomyces Mycoderma var. cerevisiae und vini) und Saccharomyces apiculatus, welche beide, bei übrigens geeigneter Ernährung mit Stickstoff- und Aschenbestandteilen, Glukose zu ihrem Wachstume verwenden, dagegen

Maltose und Dextrin (und Rohrzucker) unberührt lassen. Ich habe dieselben darum als Glukosehefen zusammengefaßt. Ferner können zu demselben Zwecke die Saccharosehefen verwendet werden. Hierher gehört z.B. eine von mir als Saccharomyces fragrans bezeichnete Hefeart. Diese Form ist nach gewissen Bakterienarten, der Hauptfeind der Preßhefe und, weil daraus durch Waschen schwierig ganz zu entfernen, auch in der Preßhefe des Handels immer gegenwärtig (ungefähr zu 1 auf 100 000). Beim „Würzeverfahren" der Preßhefenfabriken bildet diese Hefe die bekannte, sich beim Waschen schnell absetzende „schwere Schicht". Sie besteht aus Zellen von ca. 5 à 6 μ, ist also viel kleiner wie die gewöhnliche Preßhefe, welche 8 μ mißt; sie vergärt Glukose, Laevulose und Rohrzucker sehr energisch zu Alkohol und Kohlensäure und erzeugt aus den beiden ersten Zuckern dazu etwas Essigäther. Sie vergärt und assimiliert Maltose, Dextrin und Stärke gar nicht. Bei der Gelatinekultur spaltet sie sich, wie viele andere Hefearten, in drei morphologische, in der Form der Kolonieen sehr verschiedene Varietäten, wovon eine aus der gewöhnlichen ellipsoidischen, eine andere aus langfadenförmigen Zellen besteht, welche sich aber, eben wie die dritte Zwischenform, physiologisch identisch verhalten. Andere noch weniger spezialisierte Hefearten, welche ebenfalls dienlich sein können, sind die Laktosehefen, welche Glukose assimilieren, Maltose, Dextrin und Stärke aber nicht. Zwar gären und wachsen diese letzteren Hefen auch mit Laktose und Rohrzucker, doch fehlen diese Zuckerarten in den bei der Glukaseuntersuchung in Betracht kommenden Präparaten. Von diesen Laktosehefen sind die in den Kefyrkörnern vorkommenden als Saccharomyces Kefyr bezeichnete Art, sowie die in holländischem Käse allgemeine Form S. Tyrocola [1]) leicht zu isolieren und sehr geeignet, als Reaktive auf Glukose, bei Gegenwart von Maltose, verwendet zu werden.

Da alle die genannten Hefearten ihren Kohlenstoffbedarf nur einem assimilationsfähigen Kohlehydrat oder, in gewissen Fällen, einem Acetat und Glycerin entnehmen können, nicht dagegen an Peptonen und Amiden, so ist man in der Wahl der Stickstoffquelle, welche, in Vereinigung mit dem Kohlehydrate, Wachstum veranlassen soll, frei, und kann, je nach Umständen, dafür Pepton, Asparagin oder ein Ammonsalz verwenden. Jedoch muß ich bemerken, daß die für feste Substrate giltigen Regeln nicht immer unverändert auf Flüssigkeiten angewendet werden können. Der Kahmpilz, in Gelatine eingeschlossen, erzeugt keine Invertase und kann darin auch nicht auf Rohrzucker reagieren, thut dieses dagegen wohl in flüssigen Nährmedien. Wenn dieser, mir früher unbekannte Umstand, für den gegenwärtigen Zweck gleichgiltig ist, so ist dieses nicht der Fall in Bezug auf die folgende, mir erst neuerdings ganz klar gewordene Eigentümlichkeit des Kahmpilzes. Dieser Organismus vermag, wenn in Gelatine eingeschlossen, Maltose unter keinem Umstande zu assimilieren, welche Stickstoffquelle daneben auch zur Disposition gestellt wird. In flüssigen Nährmedien ist das Verhalten desselben jedoch in einem bestimmten Falle davon abweichend. Denn wenn der

1) Centralblatt für Bakteriologie. Bd. VI. 1889. p. 44.

Kahmpilz einerseits Maltose auch in flüssigen Medien nicht assimiliert, wenn Pepton, Asparagin, Ammonsalz oder ein Gemisch dieser Körper als Stickstoffquelle dargeboten wird, so findet andererseits Maltoseassimilation faktisch statt, wenn durch den Maischprozeß gebildete Malzpeptone, selbst in gekochtem Zustande, dargeboten werden. Der Kahmpilz kann deshalb nicht, wie ich früher meinte [1]), zur quantitativen Glukosebestimmung in Würzen verwendet werden. Bei dem Gebrauche des Kahmpilzes für die Glukoseuntersuchung vermittelst der auxanographischen Methode kann daraus bei genügender Vorsicht jedoch niemals eine Fehlerquelle entstehen. Uebrigens trifft der berichtete Umstand nicht zu für Saccharomyces apiculatus und S. fragrans, welche Maltose unter keinem Umstand assimilieren und also in beiderlei Hinsicht dienlich sein können.

Die Versuchsanstellung geschieht nun, wie folgt:

Es wird eine 10-proz. Lösung von Gelatine in Leitungswasser angefertigt und dazu $^1/_{20}$ Proz. Monokaliumphosphat und 5 Proz. Maltose oder Dextrin oder $^1/_2$ Proz. lösliche Stärke, und $^1/_{20}$ Proz. Chlorammon (nämlich bei der Verwendung von Kahmpilz) oder $^1/_4$ Asparagin oder 1 Proz. Pepton siccum zugesetzt (nämlich wenn S. fragrans, S. apiculatus oder S. Kefyr verwendet werden). Es wird sterilisiert, abgekühlt und vor dem Erstarren eine sehr große Anzahl von Zellen von irgend einer der oben genannten Hefearten untergemischt. Es ist am besten, dieses in einem kleinen Kochkölbchen auszuführen und die Hefe mit einem starken Platinfaden im Halse des Kölbchens an der Glaswand zu zerreiben und mit der noch flüssigen Nährgelatine innig zu vermischen. Nach längerem und vorsichtigem Schaukeln in der Hand, wobei der Schaumbildung gänzlich vorgebeugt werden muß, gießt man das Ganze in eine sterilisierte Glasdose mit gut geebnetem, außen poliertem Boden und läßt erstarren. Die dabei erhaltene Schicht muß vollständig durchsichtig sein oder, im Falle lösliche Stärke hinzugesetzt war, welche sich beim Abkühlen in feinen Tröpfchen abscheidet, nur eine schwache Trübung zeigen. Die Mikroorganismen dürfen nicht in solcher Menge vorkommen, daß sie schon vor dem Eintritte des Wachstums sichtbar sind.

Aus dem Angeführten geht hervor, daß die Hefe mit der dargebotenen Nahrung überhaupt nicht wachsen kann, denn die Kohlenstoffquelle ist in einem nicht für Assimilation geeigneten Zustande gegenwärtig. Wenn also durch irgend eine Ursache die Maltose, das Dextrin oder die Stärke in Glukose übergehen, so wird sofort Wachstum eintreten und die bisher durchsichtige Gelatineplatte wird trübe und undurchsichtig werden infolge der Kolonieenbildung aus den vereinzelten Keimen. Es ist nun die Aufgabe, diese Trübung lokal herbeizuführen durch das Auflegen von Glukasepräparaten oder von glukasehaltigen Substanzen, welche die Umwandelung der Maltose, des Dextrins oder der Stärke in Glukose bewirken, wodurch auf dem durchsichtigen Boden trübe Felder, „Auxanogramme", der betreffenden Hefen zum Vorscheine kommen. Es ist von besonderer Wichtigkeit, hierbei folgendes wohl zu beachten:

1) Zur Biologie des Kahmpilzes. (Centralbl. f. Bakteriol. Bd. XI. 1892. p. 68.)

Die Glukase ist, ganz im Gegensatze zu der Malzdiastase, ein Enzym, welches nur sehr schwierig löslich und äußerst wenig diffusionsfähig ist. Experimentiert man mit Maltose, so diffundiert dieser Körper nach den auf der Oberfläche der Gelatineplatte liegenden glukasekaltigen Teilchen und kehrt von dort als Glukose zurück, um in der nächsten Umgebung durch die Hefezellen assimiliert zu werden und zu deren Ausbildung zu Kolonieen Veranlassung zu geben. Jede dieser Kolonieen bildet dann aber ein starkes Attraktionscentrum für weiter erzeugte Glukose, sodaß die entstehenden Auxanogramme die Neigung besitzen, sich aus vereinzelten Kolonieengruppen zusammenzusetzen, welche sich um die Teilchen des auf der Platte liegenden glukasehaltigen Präparates als Centrum gruppieren. Ganz anders also wie bei der Malzdiastase, welche als leicht löslicher Körper an sich ein ausgedehntes Diffusionsfeld erzeugt und, im Falle darin Wachstum von Mikroorganismen stattfindet [1]), ein wenigstens ebenso weit ausgedehntes Auxanogramm von gleichmäßiger Trübung hervorruft. Findet die Versuchsanstellung mit löslicher Stärke statt, so ist das Kolonieenwachstum um die Glukaseteilchen noch beschränkter, weil die Stärke noch weniger diffusionsfähig ist wie die Glukase selbst und deshalb den Enzymteilchen nicht wie die Maltose zuströmen kann. Bei dieser Versuchsanstellung ist es darum ratsam, das enzymhaltige Präparat sehr fein zu pulverisieren und das Pulver auf einen nicht zu eng begrenzten Fleck auf die Platte zu streuen. Man erreicht dann auch noch den beiläufigen Vorteil, daß, wenn sich einzelne Bakterien in dem Glukasepräparate vorfinden sollten [2]), diese so weit aus einander gestreut zur Entwickelung gelangen, daß das Versuchsergebnis dadurch nicht getrübt wird.

Bei der Verwendung von Saccharomyces apiculatus bleiben die Auxanogramme etwas durchsichtiger, wie wenn diese aus S. fragans, S. Mycoderma, S. Kefyr oder S. Tyrocola entstehen. Am augenfälligsten werden dieselben bei der Verwendung des Kahmpilzes, welcher auch durch sein schnelles und leichtes Wachstum ausgezeichnet ist. Auch ist letzterer Pilz in manchen anderen Hinsichten für die Untersuchung auf Glukose sehr geeignet, wenn man sich nur bewußt bleibt, daß, wie oben angegeben, dabei durch die Gegenwart gewisser nicht genau bekannter stickstoffhaltiger Körper, welche die Maltose assimilationsfähig machen, eine Fehlerquelle möglich ist, welche für Saccharomyces fragrans, S. apiculatus u. s. w. nicht existiert. Hat man sich jedoch einmal genau angesehen, wie der Kahmpilz sich Glukose gegenüber bei der Auxanogrammbildung verhält, so wird man auch mit diesem Organismus nicht leicht irregeführt werden. Ueberdies wurde schon hervorgehoben, daß die eigentümlichen Körper, welche, ohne Glukase zu sein, die Maltose assimilationsfähig machen, erst bei dem Maischprozeß aus Getreide entstehen, dagegen nicht in frischem Getreide und den übrigen mir bekannt gewordenen Samen vorkommen. Und

---

1) Dieses findet z. B. statt, wenn in dem beschriebenen „Stärkeboden" irgend eine echte Maltosehefe (S. cerevisiae, S. ellipsoideus, S. minor etc.) vorkommt, und die Stärke lokal durch Malzdiastase oder Speichel etc. in Maltose verwandelt wird.

2) Meine aus ungekeimten Maiskörnern dargestellten Glukasepräparate geben auf den Maltose-Gelatineplatten überhaupt keine Kolonieen von Mikrobien.

da diese Körper nun noch überdies gekocht werden können, ohne ihr spezifisches Vermögen einzubüßen, während Glukase schon bei 70° C vernichtet wird[1]), so kann man, bei einiger Vorsicht, den so leicht zu erhaltenden und zu handhabenden Kahmpilz mit vollständiger Sicherheit für den Nachweis von Glukase verwenden.

Kapitel II.
Die verschiedenen Amylasearten.

In seinem berühmten Buche über das Bier sagt G. J. Mulder[2]), daß es vielleicht 25 verschiedene Amylasearten giebt. Wenn Mulder für diese Ansicht auch keine genügende Begründung giebt, so läßt sich nicht verkennen, daß er mit den späteren Erfahrungen in guter Uebereinstimmung ist. Denn sobald man die Amylasen verschiedener Herkunft genau studiert in Bezug auf ihre Produkte bei der Stärkezersetzung, ferner in Bezug auf die Beeinflussung dieses Vorganges durch Temperatur, Säuren und Alkalien, schließlich auf ihre Diffusionsgeschwindigkeit, so findet man eine überraschende Vielseitigkeit, welche nur aus der Existenz mehrerer Amylasearten erklärt werden kann.

Wie gesagt, war Mulder's Ansicht jedoch nichts mehr wie eine Ahnung des Thatbestandes, und wir müssen uns bei jenen geduldigen Beobachtern des amylolytischen Prozesses, Dubrunfaut und Cuisinier im Jahre 1881 umsehen, um die ersten positiven Angaben über das Vorkommen zweier Enzyme im Gerstenmalze zu finden[3]). Auch bei diesen Forschern ist die Frage jedoch noch vollständig in ein, sozusagen industrielles Gewand gekleidet und erst Wysman (l. c.) ist es gelungen, die „Zweienzymtheorie“ der Malzamylase zu einer feststehenden und für jedermann leicht zugänglichen Thatsache zu erheben, wenn auch seine Erklärungsweise der Beobachtungsresultate einer Abänderung bedürftig ist.

Meine, in Bezug der näheren Interpretation der Zweienzymtheorie der Gerstenmalzdiastase durch fortgesetzte Untersuchungen erhaltene, und von Wysman's Auffassung etwas abweichende Ansicht mag hier kurz erwähnt werden, weil ich dadurch genötigt war, für das zweite Enzym des Malzes nicht das von Wysman, nach Cuisinier's Vorgange gewählte Wort „Dextrinase“ zu verwenden, sondern dafür den Namen „Granulase“ einzuführen.

---

1) Aus Hefe läßt sich eine Glukaseart abscheiden, welche schon bei 55° C vernichtet wird, und welche ich Zymoglukase nennen will.

2) Het bier scheikundig beschouwd. Rotterdam 1857. pag. 177.

3) Dubrunfaut, Mémoire sur la saccharification des fécules. Paris 1882. p. 140. Cuisinier in Scheibler's neue Zeitschrift für Rübenzuckerindustrie. Bd. XVI. 1886. p. 30.

(Fortsetzung folgt.)

Bakteriologische Untersuchungen über den Reifungsprozess des Emmenthalerkäses.

Von

Dr. Ed. von Freudenreich,

Vorsteher des bakt. Laboratoriums der Molkereischule Rütti (Bern).

(Fortsetzung.)

Ich lasse hier das Resultat der Analysen kurz zusammengefaßt folgen:

1) 4. Dezember 1893. Briekäse No. 1, noch wenig gereift:
Sehr zahlreiche Milchsäurefermente (ovaler Coccus).
Sehr viele Hefekolonieen.
Ziemlich viele Kolonieen von Oïdium lactis.
Keine einzige Kolonie verflüssigender Bacillen.

2) 7. Dezember 1893. Briekäse No. 2, etwas mehr gereift:
Sehr viele Milchsäurefermente (ovaler Coccus).
Die gleiche Hefe wie oben.
Oïdium lactis.
Keine verflüssigenden Bacillen.

3) 13. Dezember 1893. Briekäse No. 3, gut gereift.
Viel Milchsäurefermente (ovaler Coccus).
Hefekolonieen.
Oïdium lactis.
Kolonieen eines großen Bacillus, der die Gelatine nicht verflüssigt, porzellanknopfartige Kolonieen bildet, sich schlecht färbt und in Milch keine sichtbaren Aenderungen hervorbringt. Derselbe findet sich häufig in Milch vor.
Keine verflüssigende Kolonieen.

4) 15. Dezember 1893. Der gleiche Käse nach zweitägigem Aufenthalte bei 30 °.
Milchsäurefermente (ovaler Coccus, Bacillus α und δ).
Oïdium lactis.
Kolonieen des sich schlecht färbenden Bacillus.
Keine Hefekolonieen mehr.
Keine verflüssigende Bacillen.
Anaërobe Platten gaben das gleiche Resultat.

5) 18. Dezember 1893. Der gleiche Käse nach fünftägigem Aufenthalte bei 30 °.
Die gleichen Milchsäurefermente.
Der sich schlecht färbende Bacillus.
Keine verflüssigende Bacillen.

6) 9. Dezember 1893. Weichkäse, Fromage Servette, aus Genf.
Zahlreiche Kolonieen des ovalen Coccus.
Kolonieen eines sich schlecht färbenden, die Gelatine nicht verflüssigenden Coccus.
Zahlreiche Hefekolonieen.

Oïdium lactis.

Eine Kolonie eines verflüssigenden Bacillus, ähnlich Bacterium termo.

7) 9. Dezember 1893. Camembertkäse, gut gereift.

Keine verflüssigende Kolonieen.

Zahlreiche Hefekolonieen (Camemberthefe No. 1).

Aeußerst zahlreiche Milchsäurefermente (ovaler Coccus, Bacillus δ).

Einige Kolonieen des sich schlecht färbenden Bacillus des Fromage Servette.

8) 13. Dezember 1893. Ziemlich gut gereifter Camembert.

Keine verflüssigende Kolonieen.

Sehr viele Milchsäurefermente (ovaler Coccus und Bacillus δ).

Hefekolonieen.

Oïdium lactis.

9) 16. Dezember 1893. Gleicher Käse nach dreitägigem Aufenthalte bei 30°.

Aeußerst zahlreiche Milchsäurefermente.

Circa 20 Hefekolonieen.

Einige wenige Kolonieen von Oïdium lactis.

Einige Kolonieen des sich schlecht färbenden Bacillus.

Eine Kolonie eines runden Micrococcus, der die Milch zum Gerinnen bringt (Mikrococcus a?).

Auf den Gelatineplatten 18 Kolonieen eines Bacillus, ähnlich Bacterium termo. Auf den Agarplatten drei Kolonieen eines Kartoffelbacillus.

10) 4. Januar 1894. Camembert, gut gereift, etwas bitter.

Sehr zahlreiche Milchsäurefermente.

Hefekolonieen (Camemberthefe No. 1).

Eine verflüssigende Bacillenkolonie (No. 1).

11) 6. Januar 1894. Gleicher Käse, nach zweitägigem Aufenthalt bei 30°.

Sehr zahlreiche Milchsäurefermente.

Hefekolonieen.

Einige verflüssigende Bacillenkolonieen.

12) 2. März 1894. Stark gereifter Camembert.

Keine verflüssigenden Bacillen.

Hefekolonieen (Camemberthefe No. 2).

Oïdium lactis.

13) 4. April 1894. Gut gereifter Camembert.

Keine verflüssigende Bacillen.

Milchsäurefermente. Keine Hefe und kein Oïdium lactis, vielleicht weil die Gelatine ziemlich alkalisch war (zur Begünstigung der verflüssigenden Bacillen).

Die erwärmte Emulsion giebt auf Platte I drei Kolonieen von Bacillus 6. Platte II und III bleiben steril.

14) 11. April 1894. Camembert.

Milchsäurefermente.

Hefe.

Der sich schlecht färbende Bacillus.

Die Platten, die mit der erwärmten Emulsion hergestellt werden, bleiben steril.

Auch die Kruste wird bakteriologisch untersucht. Die Kulturen derselben geben auch keine verflüssigenden Kolonieen, selbst nach Erwärmung der Emulsion, sondern nur Milchsäurefermente, Schimmelpilze und Kolonieen des sich schlecht färbenden Bacillus.

15) 14. Juni 1894. Camembert.

Nur die erwärmte Emulsion wird zu Plattenkulturen verwendet. Dieselben bleiben steril. Die Analyse der Kruste giebt ein gleiches Resultat.

16) 16. Juni 1894. Gleicher Käse nach zweitägigem Aufenthalte bei 30°.

Gleiches Resultat.

17) Gut gereifter Camembert.

Gewärmte Emulsion, wie am 14. Juni 1893 zu Plattenkulturen verwendet.

Weder Käse noch Kruste geben verflüssigende Organismen.

18) Gleicher Käse nach zweitägiger Bebrütung bei 30°.

Das Resultat ist das gleiche.

19) 2. März 1894. Strachinokäse.

Keine verflüssigenden Organismen.
Milchsäurefermente.
Hefekolonieen.
Oïdium lactis.

Also auch unter diesen 19 Analysen von Weichkäsen gelang es nur selten (3mal), verflüssigende Bacillen zu finden. Daß Duclaux zu einem andern Resultate kam, ist wohl nur dadurch erklärlich, daß er, zu einer Zeit arbeitend, in welcher das Plattenverfahren noch unbekannt war, nur mit Bouillonkulturen operierte, in welcher die vereinzelten Tyrothrixkeime sich gut entwickeln, während die Milchsäurefermente darin nur schlecht gedeihen. Man wird dann versucht, anzunehmen, die verflüssigenden Bacillen seien recht zahlreich, während sie in der That nur spärlich vertreten sind.

Wie man sieht, scheinen auch in den Weichkäsen die verflüssigenden Bacillen keineswegs eine Vermehrung zu erleiden, resp. eine Hauptrolle bei der Reifung zu spielen. Man findet vielmehr hauptsächlich nur Milchsäurefermente, Hefen und Oïdium lactis. Von letzterem wissen wir (vergl. landw. Jahrbuch d. Schweiz, Bd. VII, p. 220), daß es die eiweißartigen Körper zu zersetzen vermag. Was die Hefen anlangt, so sind sie in diesen Weichkäsen so zahlreich, daß ihre Mitwirkung am Reifungsprozesse kaum bezweifelt werden kann. Indessen haben noch weitere Untersuchungen darüber Klarheit zu verschaffen.

Da es mir nun nicht gelungen war, in reifenden Käsen ein häufiges Vorkommen dieser verflüssigenden Bacillen, denen ja noch immer die Hauptrolle bei dem Reifungsprozesse zugeschrieben wird, zu konstatieren, so stellte ich eine Reihe von Versuchen an, um überhaupt festzustellen, ob sie im Käse leben und sich vermehren können. Zu diesem Zwecke wurden acht Käse, vier aus zehn Litern

gewöhnlicher Milch, vier aus zehn Litern pasteurisierter Milch, unter Zusatz von Bouillonkulturen eines der am häufigsten angetroffenen verflüssigenden Bacillen, nämlich Bacillus 6, hergestellt. Pasteurisierte Milch wurde in der Hälfte der Fälle gebraucht, um den Einfluß der möglicherweise schädlichen Konkurrenz der anderen Bakterien möglichst auszuschalten und dem Bacillus 6 freien Raum zu verschaffen. Ferner wurden teils ganz junge, ziemlich sporenfreie, teils ältere, fast nur aus Sporen bestehende Kulturen verwendet, so daß jeweilen in jeder Serie die eine Hälfte der Käse mit Bacillen, die andere mit Sporen geimpft wurde. Der Zusatz der Kulturen geschah unmittelbar vor dem Laben. Nach ihrer Herstellung wurden die Käse im Laboratorium bei ca. 20° aufbewahrt, und die Zahl der Kolonieen von Bacillus 6 nach der Fabrikation und nach verschiedenen Zeitabständen festgestellt. Zu diesem Zwecke wurde eine Emulsion von 0,2 g des betreffenden Käses in sterilem Wasser bereitet und sowohl ohne, als nach vorheriger Erwärmung auf 80—85° während fünf Minuten, Platten damit gegossen.

Ich lasse die Resultate hier folgen:

I. Käse aus pasteurisierter Milch (10 l).

A. Zusatz von 100 ccm eintägiger Bouillonkultur von Bacillus 6 ohne Sporen.

1) Käse a vom 9. März 1894.

Am 10. März. 921876 Kolonieen von Bacillus 6 per Gramm.
Am 17. März. 371875 „ „ „ 6 „ „
Noch keine Reifung bemerkbar. Milchsäurefermente erscheinen auch.

Am 31. März. 250 Kolonieen von Bacillus 6 per Gramm. Auch Bacillus 1 findet sich auf den Platten (nichterwärmte Emulsion). Geschmack nicht gereift.

Am 23. April. 1625 Kolonieen von Bacillus 6 per Gramm. Bacillus 6 ist jedoch nur auf den Platten der erwärmten Emulsion gewachsen. Die nicht gewärmte Emulsion gab nur Milchsäurefermente. Geschmack nicht gereift.

Am 7. Juni. 8250 Kolonieen von Bacillus 6 per Gramm, bei Anwendung der nicht gewärmten Emulsion. Mit der erwärmten Emulsion bekommt man nur 1750 Kolonieen per Gramm. Dieser Unterschied rührt wohl davon her, daß bei der letzten Analyse keine Milchsäurefermente mehr sich zeigten, ihre Konkurrenz daher die Auskeimung der Kolonieen von Bacillus 6 nicht verhinderte. Bei Anwendung der erwärmten Emulsion bekam man eine geringere Zahl, wohl deshalb, weil immerhin einige Bacillen durch das Erwärmen getötet wurden.

2) Käse b vom 9. März 1894.

Am 10. März. 262500 Kolonieen von Bacillus 6 per Gramm.
Am 17. März. 187500 „ „ „ 6 „ „
Keine Milchsäurefermente. Keine Reifung.

Am 31. März. 14000 Kolonieen von Bacillus 6 per Gramm. Keine Milchsäurefermente. Keine Reifung.

Am 24. April. 7275 Kolonien von Bacillus 6 per Gramm. Die erwärmte Emulsion giebt 2690 Bacillen per Gramm. Zahlreiche Milchsäurefermente. Geschmack etwas gereift.

Am 7. April. 9375 Kolonieen von Bacillus 6. (Erwärmte Emulsion 2937.) Keine Milchsäurefermente mehr. Dem Geschmacke nach etwas gereift, aber weniger als es bei den Käsen vom 26. und 30. März der Fall war.

B. Zusatz von 100 ccm sporenhaltiger, ca. achttägiger Bouillonkultur von Bacillus 6.

1) Käse a vom 8. März 1894.

Am 9. März. 446 375 Kolonieen von Bacillus 6 per Gramm.

Am 16. März. 440 626 Kolonieen von Bacillus 6 per Gramm. Wenig angenehmer, nicht gereifter Geschmack. Keine Milchsäurefermente.

Am 31. März. 115 625 Kolonieen von Bacillus 6 per Gramm. Keine Milchsäurefermente.

Am 23. April. 562 500 Kolonieen von Bacillus 6 per Gramm. Die nicht erwärmte Emulsion giebt 150 000 Kolonieen von Bacillus 6 per Gramm. Ziemlich viel Milchsäurefermente.

Am 5. Juni. 226 833 Kolonieen von Bacillus 6 per Gramm. Die erwärmte Emulsion giebt deren 211 465. Ziemlich viele Milchsäurefermente. Dem Geschmacke nach merkliche, wenn auch unvollständige Reifung.

Ueber das Resultat der chemischen Analyse dieses Käses wird weiter unten berichtet werden.

2) Käse b vom 8. März 1894.

Am 9. März. 390 625 Kolonieen von Bacillus 6 per Gramm nebst Milchsäurefermenten.

Am 16. März. 183 750 Kolonieen von Bacillus 6 per Gramm.
Am 31. März. 78 471 „ „ „ 6 „ „
Am 23. April. 553 125 „ „ „ 6 „ „
Die erwärmte Emulsion giebt 187 500 Kolonieen.

Am 5. Juni. 285 416 Kolonieen von Bacillus 6 per Gramm (mit der erwärmten Emulsion 234 375). Die Milchsäurefermente sind verschwunden. Dem Geschmacke nach ist eine gewisse Reifung vorhanden, aber nicht sehr ausgesprochen.

II. Käse aus nicht pasteurisierter Milch.

A. Zusatz von 100 ccm eintägiger Bouillonkultur von Bacillus 6 (ohne Sporen).

1) Käse a vom 26. März 1894.

Am 27. März. 912 500 Kolonieen von Bacillus 6 per Gramm.

Am 2. April. (Ohne vorherige Erwärmung der Emulsion.) Sehr viele Milchsäurefermente; keine Kolonieen von Bacillus 6. Jedoch hatte man an diesem Tage unterlassen, auch mit der erwärmten Emulsion Platten zu gießen.

Am 18. April. 1875 Kolonieen von Bacillus 6 per Gramm. Dieses Resultat erhält man nur nach Erwärmen der Emulsion; ohne vorherige

Erwärmung kommen auf den Platten nur Milchsäurefermente vor. Die Reifung schreitet vor.

Am 8. Juni. 1750 Kolonieen von Bacillus 6 per Gramm, auch hier nur nach vorheriger Erwärmung der Emulsion. Sonst nur sehr zahlreiche Milchsäurefermente. Von dem Resultate der chemischen Analyse dieses Käses wird weiter unten die Rede sein.

2) Käse b vom 26. März 1894.

Am 27. März. 140 625 Kolonieen von Bacillus 6 per Gramm (ohne vorherige Erwärmung der Emulsion) nebst Milchsäurefermenten.

Am 4. April. Selbst die Platten, die nach Erwärmung der Emulsion hergestellt werden, geben keine Kolonieen von Bacillus 6 mehr. Milchsäurefermente, auch Bacillus Schafferi. (Der Käse war ein wenig gebläht.)

Am 18. April. 125 Kolonieen von Bacillus 6 per Gramm. (Ohne vorhergehende Erwärmung der Emulsion geben die Platten nur Milchsäurefermente.)

Am 9. Juni. Bacillus 6 durch kein Verfahren mehr nachweisbar. Ziemlich gute Reifung. Zahlreiche Milchsäurefermente, ca. 78 125 000 per Gramm.

B. Zusatz von 100 ccm sporenhaltiger Kultur von Bacillus 6.

1) Käse a vom 30. März 1894.

Am 30. März. (Unmittelbar nach der Herstellung untersucht.) 2 656 250 Kolonieen von Bacillus 6 per Gramm.

Am 5. April. 931 000 Kolonieen von Bacillus 6 per Gramm. Ohne vorherige Erwärmung nur 75 000 per Gramm. Zahlreiche Milchsäurefermente.

Am 18. April. 912 500 Kolonieen von Bacillus 6 per Gramm. (Ohne Erwärmung der Emulsion 525 000.)

Am 9. Juni. 1 119 791 Kolonieen von Bacillus 6 per Gramm. (Merkwürdigerweise bekommt man diesmal weniger Kolonieen nach Erwärmen der Platten, nämlich 459 375 per Gramm.) Ziemlich gute Reifung.

2) Käse b vom 30. März 1894.

Am 30. März. Ca. 4 500 000 Kolonieen von Bacillus 6 per Gramm.

Am 5. April. 275 000 Kolonieen von Bacillus 6 per Gramm. (Ohne Erwärmung der Emulsion nur Milchsäurefermente.)

Am 18. April. 1 387 500 Kolonieen von Bacillus 6 per Gramm. (Ohne Erwärmung nur 225 000.) Am 5. April muß man offenbar auf eine besonders bakterienarme Partie des Käses gestoßen sein. Viel Milchsäurefermente.

Am 9. Juni. 781 250 Kolonieen von Bacillus 6 per Gramm. (Ohne Erwärmung 281 250). Ziemlich gute Reifung.

Diese Versuche sind in verschiedener Hinsicht lehrreich.

Was zunächst die Methodik anlangt, so sieht man, daß, wenn die verflüssigenden Bacillen in großer Anzahl vorhanden sind, sie selbst auf den gewöhnlichen Gelatineplatten sich gut entwickeln, so daß aus ihrem Ausbleiben auf solchen jedenfalls gefolgert werden

darf, daß sie nicht in sehr großer Anzahl sich vorfinden (Käse vom 26. und 30. März). Haben freilich die Milchsäurefermente sich stark vermehrt, dann entwickeln sich die verflüssigenden Bacillenkolonieen gewöhnlich nicht oder nur schlecht auf den Gelatineplatten, wenn sie auch im Käse selbst noch lebensfähig sind. Dagegen kommen sie zum Vorscheine, sobald man durch kurzes Erwärmen der Emulsion auf 80—85° die Milchsäurefermente abtötet. Durch das Erwärmen können freilich auch einige wahrscheinlich nicht sporenhaltige Bacillen abgetötet werden, so daß unter Umständen, z. B. in Käsen aus pasteurisierter Milch, in welchen die Milchsäurefermente meist weniger zahlreich sind, die nicht gewärmte Emulsion mehr verflüssigende Bacillen giebt als die erwärmte (z. B. Käse b vom 9. März, am 24. April und 7. Juni und Käse a vom 9. März, am 7. Juni). Meistens indessen ist diese Verminderung der Zahl der verflüssigenden Bacillen infolge der Erwärmung sehr gering, und manchmal sieht man auch gerade das Gegenteil (z. B. Käse vom 8. März am 23. April). Jedenfalls ist dieses zuerst von Duclaux angewandte Verfahren der sicherste Weg, um die im Käse vorhandenen Tyrothrix-Arten zum Vorschein zu bringen. Kann man selbst mittels dieses Verfahrens keine verflüssigenden Bacillen auf den Platten zum Auskeimen bringen, so ist daraus auf ihre Abwesenheit zu schließen. Wie eingangs gesagt, wende ich diese Methode nunmehr bei jeder bakteriologischen Käseanalyse an.

Was nun die erhaltenen Zahlen anlangt, so sei noch bemerkt, daß ich bei Vorhandensein von Differenzen in den Resultaten der erwärmten und nicht erwärmten Emulsionen stets die höhere Zahl der Berechnung zu Grunde legte; in der Regel wurde in jeder Serie (erwärmte und nicht erwärmte Emulsion) das Mittel der Platten der 3 üblichen Verdünnungen genommen; wenn aber die erste Platte so viel Kolonieen enthielt, daß eine vollständige Zählung unmöglich war, so wurde das Mittel nur aus den Platten 2. und 3. Verdünnung berechnet, weil die Zuzählung der jedenfalls, weil zu klein, der Wirklichkeit nicht entsprechenden Kolonieenzahl der ersten Platte das Mittel heruntergesetzt hätte. Es ist somit alles geschehen, um die allfällig vorhandenen Exemplare des Bacillus 6 möglichst vollständig zu zählen.

Vor allem nun zeigt es sich, daß von einer Vermehrung der eingeimpften Bacillen keine Rede sein kann. Es macht sich aber ein Unterschied geltend, je nachdem sporenfreie oder sporenhaltige Kulturen eingeimpft worden sind. In ersterem Falle ist bereits nach einigen Tagen die Zahl der eingeimpften Bacillen bedeutend gesunken; sie nimmt weiter ab, und am Ende des Versuches findet man nur noch sehr wenige lebensfähige Keime, wahrscheinlich Sporen, die in der eingeimpften Kultur sich bereits gebildet hatten. In den Käsen aus nicht pasteurisierter Milch ist dieser Untergang noch rascher, jedenfalls wegen der Konkurrenz der Milchsäurebakterien. In meinen Versuchen sieht man oft binnen wenigen Tagen die Zahl der Bacillen von ca. einer Million per Gramm auf ein paar Tausend herunterfallen.

Bei Einimpfung sporenhaltiger Kulturen ist das Bild ein anderes.

Gewöhnlich sinkt in den ersten Tagen die Zahl der Bacillen ziemlich stark, dann bleibt sie bis zum Ende des Versuches mit einigen Schwankungen, die jedenfalls in der Unsicherheit unserer heutigen Zählmethoden ihren Grund haben, so ziemlich gleich. Diese Thatsache läßt sich leicht erklären: In der sporenhaltigen eingeimpften Kultur befinden sich natürlich auch Bacillen, nicht bloß Sporen; erstere sterben nun rasch ab, daher die Abnahme von der ersten bis zur zweiten Zählung; dann bleiben nur die widerstandsfähigen Sporen im Käse zurück, die sich zwar nicht weiter entwickeln, aber auch nicht absterben, daher ihre Zahl von nun an ziemlich konstant bleibt.

Sehr verschieden ist also das Verhalten der Milchsäurefermente und der verflüssigenden Bacillen, wenigstens eines Hauptrepräsentanten derselben, im Käse: während erstere ins Unglaubliche sich vermehren, verschwinden letztere sehr rasch, auch wenn man sie anfangs in ganz kolossalen Mengen dem Käse zusetzt. In Wirklichkeit werden sie in frischem Käse nie so zahlreich sein können, wie es in meinen Versuchskäsen der Fall war.

Sind sie überhaupt in der Milch stets in großer Anzahl vorhanden, wie dies z. B. für die Milchsäurebakterien der Fall ist? Statistische Angaben hierüber fehlen, soviel ich weiß. Zwar bemerkt Flügge in seiner Arbeit über Milchsterilisierung[1]), daß diese Bacillen, welche gerade wegen ihrer resistenten Sporen die Sterilisierung so erschweren, fast in jeder Probe Milch zu finden seien, selbst in 10—20 ccm; genauere Angaben über ihre Zahl macht er indessen nicht. Ich habe daher einige Proben Milch speziell auf das Vorhandensein dieser verflüssigenden Bacillen mittels vorheriger kurzer Erwärmung und nachheriger Verimpfung von gewöhnlich 5 Tropfen = $^1/_4$ ccm in Gelatineplatten untersucht.

Dabei habe ich folgende Zahlen gefunden:

1) Marktmilch, am 30. Juni 1894. Im ganzen 3300000 Bakterien per ccm (Milchsäurebakterien und verflüssigende Kokken); darunter jedoch keine verflüssigenden Bacillen nachweisbar, wenigstens nicht in $^1/_4$ ccm.

2) Gleiche Milch nach zweitägigem Aufenthalte bei 22°. Keine verflüssigenden Bacillen in $^1/_4$ ccm nachweisbar.

3) Gleiche Milch wie sub 1, nach zweitägigem Aufenthalte bei 35°. Bloß 1 Tropfen der erwärmten Milch zur Impfung der Gelatine verwendet (= $^1/_{20}$ ccm). Keine verflüssigenden Bacillen.

4) Gleiche Milch, 15 Minuten lang gekocht, und 2 Tage bei 35° aufbewahrt. Die mit 1 Tropfen geimpfte Gelatineplatte schon nach 2 Tagen total verflüssigt durch Heubacillen (Tyrothrix).

5) Marktmilch, vom 6. Juli 1894: 160 verflüssigende Bacillen per ccm.

6) Marktmilch, vom 10. Juli 1894: Keine verflüssigende Bacillen in $^1/_4$ ccm nachweisbar.

7) Marktmilch, vom 11. Juli 1894: 20 verflüssigende Bacillen per ccm.

---

1) Flügge, Die Aufgaben und Leistungen der Milchsterilisierung gegenüber den Darmkrankheiten der Säuglinge. (Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten. Bd. XVII. p. 272.)

8) Kindermilch, vom 21. Juli 1894: 4 verflüssigende Bacillen per ccm.

9) Morgenmilch, von der Molkerei Bern bezogen, am 2. Juli. Impfungen mit $^1/_{25}$ Tropfen = $^1/_{500}$ ccm bleiben steril, dagegen wurde die mit 1 Tropfen geimpfte Platte noch vor deren Untersuchung durch Bacillen verflüssigt. Somit enthält diese Milch verflüssigende Bacillen, jedoch weniger als 500 per ccm. Aus dieser Morgenmilch (20 Liter) wurden 2 Käse aus je 10 Litern hergestellt und dieselben eingehend auf ihren Gehalt an verflüssigenden Bacillen untersucht.

	Käse a.	Käse b.
Am 3. Juli:	100 verfl. Bac. per Gramm.	400 verfl. Bac. per Gramm.
„ 10. Juli:	keine.	300 „ „ „ „
„ 23. Juli:	keine.	keine.

10) Abendmilch der Molkerei Bern, vom 2. Juli, am 3. Juli untersucht. Sie enthält 140 verflüssigende Bacillen per ccm. Aus derselben (20 Liter) werden ebenfalls zwei Versuchskäse aus je 10 Litern hergestellt und letztere einigemal auf ihren Gehalt an verflüssigenden Bacillen untersucht:

	Käse a.	Käse b.
Am 4. Juli:	100 verfl. Bac. per Gramm.	300 verfl. Bac. per Gramm.
„ 10. Juli:	200 „ „ „ „	600 „ „ „ „
„ 23. Juli:	100 „ „ „ „	—
„ 28. Juli:	100 „ „ „ „	100 „ „ „ „

Diese Versuche zeigen, daß die Milch relativ wenige verflüssigende Bacillenarten enthält, selbst nach längerem Stehenbleiben; denn einige Hundert solcher Bacillen sind nichts, verglichen mit den Hunderttausenden von Bakterien, welche die gewöhnliche Marktmilch enthält. Aus den Versuchen 9 und 10 ersieht man von neuem, wie rasch diese verflüssigenden Bacillenarten im reifenden Käse verschwinden. Die Vermehrung im Käse b der Milch No. 10 ist wohl bloß scheinbar, und muß die am 10. Juli gefundene Zahl auf Zufall beruhen, da ja in der Folge von dieser Vermehrung nichts mehr zu bemerken ist. Gegenwärtig aber sind sie jedoch, wie auch Flügge gezeigt hat, sozusagen in jeder Milchprobe. Dieses zeigt Versuch 4, in welchem die Milch aufgekocht, 2 Tage bei 35° aufbewahrt wurde und dann von verflüssigenden Bacillen wimmelte, da letztere sich in Abwesenheit der durch das Aufkochen abgetöteten Milchsäurefermente reichlich hatten entwickeln können.

Die relativ sehr geringe Zahl von verflüssigenden Bacillen, die man im Käse findet und besonders der Umstand, daß sie in demselben sich jedenfalls nicht vermehren, sondern rasch absterben, macht es sehr wenig wahrscheinlich, daß ihnen bei der Reifung des Käses irgend eine bedeutende Rolle zukommen solle. Indessen könnte man vielleicht einwenden, daß sie zwar sich im Käse nicht vermehren, jedoch aber während der kurzen Zeit, die sie in diesem Nährsubstrate verleben, so viel des von Duclaux „Kasease“ genannten Fermentes des Kaseïns produzieren, daß dadurch das Zustandekommen der Reifung, d. h. die Peptonisierung des Kaseïns ermöglicht würde. Wäre dieses der Fall, so müßte augenscheinlich der Zusatz großer Mengen von verflüssigenden Bakterien bei Käsen aus gewöhnlicher

Milch raschere und bei solchen aus pasteurisierter Milch Reifung überhaupt zur Folge haben. Ich habe daher bei allen bereits besprochenen Versuchskäsen den Reifungsgrad bei der Untersuchung wenigstens dem Geschmacke nach festgestellt; eine vollständige chemische Analyse konnte ich nur in drei Fällen (Käse a vom 8. III, 9. III und 26. III) dank der Güte des Herrn Stef. Bondzynski, Assistenten des Kantonschemikers Dr. Schaffer in Bern im Laboratorium des letzteren, ausführen lassen. Da solche Analysen sehr zeitraubend sind und die ganze Thätigkeit eines sehr erfahrenen Chemikers für einige Zeit vollauf in Anspruch nehmen, war mir daher leider nicht möglich, alle erwähnten und später noch zu erwähnenden Versuchskäse in gleicher Weise behandeln zu lassen. Außer den bereits besprochenen Versuchskäsen, die eigentlich nur über eine etwaige Vermehrung der verflüssigenden Bacillen im Käse Auskunft zu geben hatten, machte ich nämlich in den Jahren 1893 und 1894 noch eine ganze Reihe von Versuchskäsen aus pasteurisierter Milch, die nicht nur mit Bacillus 6, sondern noch mit vielen der anderen vorgefundenen verflüssigenden Bacillen, sowie mit einigen Duclauxschen Tyrothrix-Arten geimpft wurden, um festzustellen, inwiefern diese die Reifung begünstigen oder nicht. Ferner wurde einem am 24. April 1894 in der Molkereischule Rütti aus 390 Litern Milch (Abendmilch vom 23. April und Morgenmilch vom 24. April) hergestellten Käse ein Liter sporenhaltiger Bouillonkultur von Bacillus 6 bei dem Laben zugesetzt, um festzustellen, ob dadurch die Reifung beschleunigt würde. Als Kontrollkäse dienten die am 23. und 25. April hergestellten Käse.

Ich werde nun zunächst den letzteren besprechen. Die Zahl der eingeimpften Bakterien wurde nicht unmittelbar nach der Herstellung des Käses bestimmt. Dieselbe läßt sich indessen leicht annähernd bestimmen. Wir haben gesehen, daß bei Zusatz von 100 ccm sporenhaltiger Kulturen von Bacillus 6 die aus 10 Litern Milch hergestellte frische Käsemasse das eine Mal 2 656 250, das andere Mal 4 500 000 Bacillen per Gramm enthielt. Nehmen wir also als Minimum die runde Zahl von 2 500 000 per Gramm und der Vereinfachung wegen 400 Liter Milch an, statt der wirklich verkästen 390 Liter, so hätten wir bei Zusatz von 1 Liter Kultur im Käse vom 24. April mindestens 625 000 Bacillen per Gramm finden müssen. Der Käse wurde in der Folge zweimal untersucht. Anfangs Juni gab er noch 93 750 Kolonieen von Bacillus 6 per Gramm, am 13. Juli nur noch 34 000. Also auch hier Abnahme der eingeimpften verflüssigenden Bacillen. Die Reifung war normal, unterschied sich aber in keiner Weise, weder Anfangs Juni, noch am 13. Juli von derjenigen der Kontrollkäse. Eine günstige Beeinflussung der Reifung durch diesen Zusatz hat sich somit nicht feststellen lassen.

Was das Resultat der chemischen Analyse von drei der mit Bacillus 6 geimpften und bereits besprochenen Käse anlangt, nämlich die Käse a vom 8. März, 9. März und 26. März, so erhielt Herr Bondzynski bei Anwendung seiner im landw. Jahrbuche der Schweiz, Bd. VIII, p. 189 näher beschriebenen Methode folgende Zahlen:

Zusammensetzung der Käse.

Bestandteile	Käse a v. 8. März	Käse a v. 9. März	Käse a v. 26. März
Wasser	21,3	21,62	27,0
Fett	38,45	37,72	34,84
Fettfreie Trockensubstanz	40,25	40,66	38,16
Gesamter Stickstoff	4,67	4,37	4,94
Lösliche Bestandteile:			
Gesamter Extrakt	15.87	9,82	13,75
Asche	6,14	4.77	3,90
Eiweißkörper	6,55	2,69	6,92
Stickstoff derselben	0,99	0.41	1,05
Eiweißzersetzungsprodukte	3,18	2,36	2,93
Stickstoff derselben	0,16	0,11	0,37
Gesamter Stickstoff	1,15	0,52	1,42

Diese Zahlen hat Herr Bondzynski in folgende umgewandelt, welche mehr Uebersichtlichkeit bieten:

Von 100 Teilen des gesamten N sind in Lösung übergegangen	1) Käse a v 8. März	2) Käse a v. 9. März	3) Käse a v. 26. März
Insgesamt	18,7	11,9	28,7
In Form von Eiweißkörpern	16,1	9,4	21,2
In Form von Eiweißzersetzungprodukten	2,6	2,5	7,5

Zu diesen Tabellen bemerkt Herr Bondzynski folgendes: „Bei Beurteilung der Analysenresultate läuft man der Schwierigkeit entgegen:

1) daß man über die Zusammensetzung der im Kleinen hergestellten Versuchskäse keine oder doch zu wenige Zahlen in der Litteratur findet [1];
2) daß man nicht weiß, wie aus pasteurisierter Milch dargestellte Käse zusammengesetzt sind;
3) daß endlich die untersuchten Käse dem Alter nach noch als junge zu bezeichnen sind.

Aus diesen Gründen können die angeführten Analysen nicht als erschöpfend betrachtet werden.

Die Extrakte zur Bestimmung der löslichen Bestandteile waren bei Zimmertemperatur hergestellt (über den Einfluß der Temperatur vergl. meine Arbeit im Landw. Jahrbuche der Schweiz (p. 189). Alle übrigen Methoden sind in gleicher Weise, wie in meiner erwähnten Arbeit beschrieben, angewendet worden.

Von den drei analysierten Käsen ist als am meisten in der Reifung vorgeschritten der Käse No. 3 zu bezeichnen. In Bezug auf die Menge des in Lösung übergegangenen Stickstoffes (28,7 Proz. des

1) Die einzige Notiz hierüber findet sich im Landw. Jahrbuche der Schweiz. 1892. v. Freudenreich und F. Schaffer, über den Einfluß des Luftabschlusses auf die Reifung des „Emmenthalerkäses". Da indessen die Verhältnisse ganz andere waren, lassen sich die Zahlen nicht vergleichen.

gesamten Stickstoffes) steht er den normalen Emmenthalerkäsen (24 bis 32 Proz.) nahe; zieht man aber die Verteilung des löslichen Stickstoffes in Betracht, so ist er nicht als ein ausgereifter zu bezeichnen. Die Menge der löslichen Eiweißkörper, welche in demselben gleich oder sogar größer ist als in den normalen Emmenthalerkäsen, kann teilweise auf die Herstellung des Extraktes bei Zimmertemperatur zurückgeführt werden; hingegen die Prozentzahl des in Lösung in Form von Zersetzungsprodukten übergegangenen Stickstoffes (7,5 Proz.) macht nicht einmal die Hälfte des normalen Gehaltes (17—22 Proz.) aus. Von den zwei anderen Käsen No. 1 und 2 ist No. 1 als der gereiftere zu bezeichnen; aber mit No. 3 verglichen, stehen sie ganz erheblich zurück, sowohl mit Bezug auf Eiweißkörper, wie auch auf Eiweißzersetzungsprodukte. Der Unterschied zwischen den Käsen 1 und 2 ist nicht so deutlich in der Menge der Zersetzungsprodukte als in derjenigen der löslichen Eiweißkörper ausgeprägt. Die Zahlen scheinen die Annahme zu bestätigen, welche sich auch aus anderen Analysen ergeben möchte, daß die Reifung nicht gleichmäßig mit Bezug auf Löslichwerden der Eiweißkörper und Zersetzungsprodukte vorschreitet, sondern daß sich vielmehr die Richtung kundgiebt, zuerst das Löslichwerden der Eiweißkörper zu stande zu bringen und erst aus dem Vorrate der letzteren die Zersetzungsprodukte zu bilden. Auffallend ist auch der Prozentgehalt der Zersetzungsprodukte an Stickstoff: in allen bis jetzt analysierten Käsen geht der Stickstoffgehalt der Zersetzungsprodukte nie unter zehn Prozent, was Benecke und Schulze zu dem Schlusse berechtigte, es sei eine noch nicht bekannte N-reichere Substanz im Käse vorhanden. Im Käse No. 3 sind die bezüglichen Verhältnisse normal; hingegen in den Nrn. 1 und 2 ist der Stickstoffgehalt viel kleiner, woraus man schließen könnte, daß die Zersetzungsprodukte in ihnen nicht ganz die gleichen sind oder vielmehr, daß in ihnen nicht die gewöhnlichen vertreten sind.

Der Wassergehalt der Käse ist viel kleiner als derjenige der normalen Emmenthalerkäse (ca. 32 Proz.)."

Was zunächst letztere Bemerkung anlangt, so erklärt sich der geringere Wassergehalt daraus, daß diese Versuchskäse von Anfang an bei ca. 20—22° gehalten wurden, um die Vermehrung der verflüssigenden Bacillen, die bei zu niedriger Temperatur nur schlecht gedeihen, möglichst zu erleichtern.

Im übrigen beweisen die Resultate der Analyse in überzeugender Weise, daß nur der Käse vom 26. März mit Rücksicht auf sein Alter als ziemlich normal gereift anzusehen ist, während die beiden anderen weit zurückstehen. Nun war der Käse vom 26. März aus gewöhnlicher Milch hergestellt, die anderen aus pasteurisierter Milch, während doch alle drei mit Bacillus 6 geimpft waren. Ist dieses nicht der beste Beweis, daß die verflüssigenden Bacillen eine sehr unwesentliche Rolle bei der Reifung spielen, und daß bei der letzteren, in den Käsen vom 8. und 9. März, wohl nur die trotz der Pasteurisation am Leben gebliebenen Mikroorganismen in Betracht kommen können? Bei diesen zwei letzteren Käsen war eine gewisse Reifung vorhanden, aber in keinem fehlten die Milchsäurefermente, wenigstens nicht nach

einigen Wochen; ja, aus meinen Notizen ergiebt sich, daß sie gerade in demjenigen dieser zwei Käse relativ am zahlreichsten waren, der auch am meisten gelöste Eiweißkörper enthielt (Käse a vom 8. März); und daß in letzterem nicht der Bacillus 6 dieses bewirkte, wird dadurch wahrscheinlich, daß dieser gerade mit Sporen geimpft worden war, die, wie wir gesehen haben, sich nicht vermehren, sondern mehr ein passives Dasein im Käse führen.

Sehen wir nun, ob die übrigen Versuche, die ich sowohl mit Bacillus 6, als mit anderen verflüssigenden Bacillen anstellte, indem ich Versuchskäse mit denselben impfte, mehr zu Gunsten der Wirkung dieser Klasse von Mikroorganismen sprechen.

Diese Käse wurden wie gewöhnlich hergestellt, indem Kulturen der zu untersuchenden Bakterien der meist pasteurisierten[1]) Milch vor dem Laben zugesetzt wurden. Dieselben wurden in der Folge öfters oder nur einmal am Ende der Reifungszeit bakteriologisch untersucht und der Reifungsgrad dem Geschmacke nach notiert. Bei der bakteriologischen Untersuchung wurden Gelatineplatten und Agaroberflächeplatten gebraucht. Das Verfahren des Erwärmens der Emulsion war damals leider noch nicht in Gebrauch, so daß eine sichere Zählung der Kolonieen verflüssigender Bacillen nicht möglich war. Ueber ihr Vorhandensein überhaupt konnten indessen die Agarplatten genügende Auskunft geben. Stets wurde natürlich auch ein Kontrollkäse aus der gleichen pasteurisierten, aber ungeimpften Milch hergestellt.

(Fortsetzung folgt.)

Referate.

Migula, W., Ueber den Zellinhalt von Bacillus oxalaticus Zopf. (Arbeiten aus dem bakteriologischen Institute der Technischen Hochschule zu Karlsruhe. Herausgeg. von L. Klein und W. Migula. Bd. I. Heft 1. p. 139.)

Verf. wählte bei seinen systematischen Bakterienuntersuchungen den Bacillus oxalaticus Zopf als Ausgangspunkt, da sich bei seiner enormen Größe — er ist $2^1/_2$—4 μ dick und oft 4—30 μ lang — Differenzierungen des Zellinhaltes sehr gut erkennen lassen mußten. Während nun die jungen Zellen dieses Bacillus fast völlig homogen erscheinen, zeigten sich bei älteren eigentümliche Differenzierungen im Protoplasma, und zwar 1) kleine Körnchen, welche das Licht stärker brechen als das übrige Plasma, 2) ein schwächer lichtbrechendes Gebilde, welches sich von dem Bütschlischen Centralkörper dadurch unterscheidet, daß dieser stärker lichtbrechend ist. Verf. hält dieses Gebilde für eine große centrale, mit Zellsaft gefüllte Vakuole. Die Vakuolennatur konnte durch die

---

1) Wo nicht das Gegenteil ausdrücklich gesagt ist, sind die Käse in den folgenden Versuchen stets aus pasteurisierter Milch hergestellt worden.

verschiedensten Experimente zweifellos sichergestellt werden. Die Körnchen liegen in der centralen Wandschicht, teilen sich nicht, sondern da, wo sich ihre Zahl vergrößert, gehen sie aus den kleinen, im Wandplasma vorhandenen Granula hervor. Sie stehen dem Chromatin chemisch am nächsten und sind wahrscheinlich identisch mit den von Wahrlich beschriebenen Körnchen, unterscheiden sich aber von den roten Körnchen Bütschli's durch ihre Unverdaulichkeit in Pepsin. Eine Wabenstruktur, welche Bütschli bei einzelnen Bakterien sah, konnte beim Bac. oxalaticus Zopf nicht beobachtet werden. Die geschilderten Erscheinungen zeigen, daß „jedenfalls bei Bakterien die Verhältnisse nicht so einfach liegen wie bei den Cyanophyceen und daß namentlich zwischen den endosporen Bakterien und den nicht endosporen, den Spaltalgen nahestehenden Arten erhebliche Unterschiede im Bau der Zelle vorhanden sind". Eine weitere Behandlung dieses Gegenstandes wird vom Verf. in seiner demnächst erscheinenden systematischen Bearbeitung der Bakterien gegeben werden. Der Arbeit ist eine farbige Tafel beigegeben, welche die besprochenen Differenzierungsvorgänge in anschaulicher Weise erläutert. Lösener (Berlin).

Winogradsky, S., Contributions à la morphologie des organismes de la nitrification. (Archives des sciences biologiques publ. par l'Inst. impér. d. méd. expér. à St. Pétersbourg. T. I. No. 1 u. 2. p. 87.)

Die vorliegende Arbeit ist eine Fortsetzung der früheren, in Band IV und V der Annales de l'Institut Pasteur publizierten Untersuchungen des Verf.'s über die nitrifizierenden Mikroorganismen und beschäftigt sich, während diese hauptsächlich die chemische und physiologische Seite des Prozesses zum Gegenstande hatten, mit der Morphologie der betreffenden Mikroben.

Verf. unterzieht zunächst die von Frankland und Warington über den Nitrifikationsprozeß angestellten Untersuchungen einer näheren Besprechung und Kritik und wendet sich dann zur Beschreibung des von ihm zuerst in Züricher Erde gefundenen Mikroben. Beobachtet man das Wachstum desselben in einer Nährsalzlösung, welche 2—2,5 pro mille Ammoniumsulfat enthält, so tritt, wenn junge und kräftige Organismen zur Uebertragung verwendet wurden, eine bemerkbare Nitritreaktion schon nach 2 Tagen auf, nach 4—5 Tagen ist sie sehr intensiv. Fertigt man zu dieser Zeit aus der am Boden des Kulturgefässes liegenden Schicht ein Deckglaspräparat und färbt vorsichtig, so findet man runde oder ovale, verschieden große Körper, welche aus festen, mit einer membranartigen Schicht umgebenen, Anhäufungen der Mikroorganismen bestehen und wirkliche Kolonieen bez. Zooglöen darstellen.

Am 7. Tage oder später wird die klare Kulturflüssigkeit trübe. Als Ursache dieser Trübung ergiebt das Mikroskop das Auftreten von lebhaft beweglichen Bakterien, welche sich aus den jetzt aufgelockerten Kolonieen losgelöst haben. Während der Periode der Bildung dieser beweglichen Bakterien erreicht die Nitritreaktion ihr Maximum an Intensität, doch ist immer noch Ammoniak vorhanden.

Nach 24—48 Stunden beginnt die Trübung wieder zu schwinden, die am Boden liegende Schicht von Magnesiumkarbonat bedeckt sich mit einer gelatinösen Membran und die Nitrifikation ist zu Ende.

Diese zweifache Form, in welcher der Mikrobe auftritt — das Zoogloeastadium und das Monadenstadium — ist nicht regelmäßig in der geschilderten Weise zu beobachten. Bisweilen überwiegt die eine die andere, manchmal scheint auch nur eine Form aufzutreten, weil die andere nur ganz vorübergehend gebildet ist. Interessant ist, daß man den Wachstumscharakter des Mikroben nach der einen oder anderen Richtung in derselben Kultur konstant erhalten kann, wenn man immer von neuem Ammoniak zugiebt. Auch gelingt dies manchmal in einer Serie von aufeinanderfolgenden Kulturen, doch erscheint dann plötzlich, ohne daß man den Grund findet, die andere Form wieder.

Die beiden Stadien unterscheiden sich nicht nur hinsichtlich ihrer Form, sondern auch der Energie der Nitritbildung, und zwar ist die Fähigkeit, Nitrit zu bilden, in bedeutend stärkerem Maße bei den Monaden als bei den Zooglöen entwickelt. Die Bewegung der Monadenform erfolgt durch eine kurze Geißel. In festen Nährböden, die durch Zusatz von Kieselsäure zu einer passenden Nährsalzlösung hergestellt werden, macht sich die doppelte Wachstumsform gleichfalls geltend. Auf den Kieselsäureplatten sind die Kolonieen zunächst sehr kompakt, scharf konturiert und von brauner Farbe. In diesem Zustande gleichen sie vollständig den Zooglöen in flüssigen Nährböden. Nach 10—14 Tagen treten um die Kolonieen helle ungefärbte Massen mit verschiedenartig geformten Ausläufern auf, welche, wie die Untersuchung im hängenden Tropfen lehrt, aus beweglichen Monaden bestehen. Bei der Untersuchung von Erdproben, die aus verschiedenen Gegenden Europas stammten, fand Verf. immer dieselben Arten von nitritbildenden Bakterien mit der charakteristischen Form der Zooglöen und Monaden, nur hinsichtlich der Größe bestand in einem Falle eine Differenz (Bakterium von Kazan). Erdproben aus Afrika und Japan enthielten dieselbe Gattung von Bakterien. Eine in vielen Beziehungen mit den europäischen Nitritbildnern übereinstimmende, in anderen von diesen abweichende, Unterart isolierte Verf. aus javanischer Erde. Ganz von den zuerst beschriebenen differente nitritbildende Mikroben ergab die Untersuchung von Erdproben aus Südamerika (Quito, Campinas) und Australien (Melbourne). Es handelte sich hierbei um große Kokken von 1,5—1,7 μ bez. 2 μ (Coccus aus Erdprobe von Campinas) Durchmesser, an welchen Beweglichkeit nicht konstatiert werden konnte. Niemals wurde in den Kulturen eine Bildung von Zooglöen, wie bei den anderen Nitrosobakterien gefunden, auch traten auf den Kieselsäureplatten nicht die charakteristischen 2 Arten von Kolonieen, helle und dunkle, auf, sondern nur große, granulierte, gelbliche Kolonieen.

Gegen Austrocknung erwiesen sich die nitritbildenden Bakterien äußerst empfindlich. Nach 24-stündigem Trocknen im Exsiccator bildeten die Zooglöenformen noch Nitrit, die Monadenformen nicht mehr, 10-tägiges Trocknen nahm auch den ersteren dies Vermögen.

Für die erste Gattung der beschriebenen Nitritbildner schlägt

W. zur Bezeichnung den Namen Nitrosomonas (mit den 2 Arten N. europaea und N. javanensis), für die zweite den Namen Nitrosococcus vor. Die Gruppe von Mikroorganismen, welche die salpetrige Säure in Salpetersäure umwandelt, nennt er Nitrobakter. Im letzten Abschnitte der interessanten Abhandlung finden sich einige Bemerkungen bezüglich der Kultur der nitritbildenden Mikroorganismen bei Gegenwart von stickstoffhaltigen, organischen Substanzen und eine genauere Vorschrift für die Herstellung der zur Isolierung und Reinzüchtung gebrauchten festen, kieselsauren Nährböden, welche im Originale nachgelesen werden muß. 16 gut ausgeführte, auf 4 Tafeln angeordnete, Photogramme illustrieren die Beschreibung des Verf.'s aufs beste. A. Welcker (Jena).

Henrici, Beitrag zur Bakterienflora des Käses. (Arbeiten aus dem bakteriologischen Institute der Technischen Hochschule zu Karlsruhe. Herausgegeben von L. Klein und W. Migula. Bd. I. Heft 1. p. 1.)

Der Inhalt dieser umfangreichen, für die Praxis der Käsebereitung wichtigen Arbeit, in welcher die Gärungsvorgänge beim Käsereifungsprozesse erklärt und die den verschiedenen, in 20 Käsesorten gefundenen Bakterien dabei zukommende Rolle eingehend besprochen wird, deckt sich mit dem einer Studie desselben Autors: „Beiträge zur Bakteriologie des Käses" (Inaug.-Diss. Emmendingen 1894). Ueber diese ist bereits in diesem Centralbl. 2. Abt. Bd. I. 1895. No. 1. p. 40 referiert worden, so daß eine nähere Besprechung der obengenannten Arbeit an dieser Stelle unterbleiben kann.

Lösener (Berlin).

Fischer, B. und **Brebeck, C.,** Zur Morphologie, Biologie und Systematik der Kahmpilze, der Monilia candida Hansen und des Soorerregers. 52 p. mit 2 photographischen Tafeln. Jena (G. Fischer) 1894. 4 Mk.

Unsere bisherigen Kenntnisse von der Gattung Mycoderma waren recht dürftige und beschränkten sich hauptsächlich auf diejenigen Formen, welche auf alkoholhaltigen Flüssigkeiten spontan auftreten und Kahmhäute bilden. Die auffällige Erscheinung der Bildung von Oberflächenhäuten lenkte zuerst die Aufmerksamkeit der Forscher auf diese Pilze. Es muß daher mit Freuden begrüßt werden, daß die beiden Verff. sich der Mühe unterzogen haben, die bis jetzt bekannten Arten von Mycoderma einer Revision zu unterziehen und ihre physiologischen und morphologischen Eigenschaften genauer zu studieren; dabei wurden auch nahe Verwandte der Gattung einer Untersuchung unterworfen. Die hübsche Ausstattung des Werkchens sowie die schönen Photographieen werden dazu beitragen, es weiter zu verbreiten.

In dem ersten Kapitel wird das allgemeine Verhalten der Kahmpilze geschildert. Da die Pilze nicht wählerisch in ihrer Nahrung sind, so konnte ein ausgiebiger Gebrauch von festen wie flüssigen Nährstoffen gemacht werden. Es kamen in erster Linie Bierwürze sowie Bierwürzgelatine zur Verwendung, daneben Nährgelatine, Milch,

Bier, Wein und Weinessig. Die Bierwürzekulturen wurden bei verschiedenen Temperaturen gehalten, bei 6—9° im Keller, bei ca. 20° im Zimmer und im Brütapparate bei 25—27° oder 37—38°. Daneben wurden auch in besonderen Gefäßen Kulturen zur Beobachtung des Gärvermögens angestellt. Zur Untersuchung auf Sporenbildung wurden Gipsblöckchenkulturen angelegt.

Die gewöhnliche Art der Fortpflanzung ist die durch Sprossung. Daneben kommen noch Sporenbildung und „endogene Zellbildung" vor. Die Sporenbildung findet nur unter günstigen Umständen und auch nicht bei allen Arten statt. Die Sporen sind rundlich mit einem hutkrempenähnlichen Saume am Rande. Ihre Form gleicht dadurch der von Endomyces decipiens, Ascoidea rubescens und Saccharomyces anomalus.

Der Vorgang der endogenen Zellbildung ist bisher bei den Pflanzen einzig dastehend. Er findet folgendermaßen statt: Es „entsteht zuerst im Innern der Zelle ein rundes, außerordentlich stark lichtbrechendes Gebilde, welches, heranwachsend, allmählich sich der Zellwand nähert und schließlich, oft schon $^1/_2$—1 Stunde nach dem ersten Erscheinen, aus der Zelle heraustritt. Während die Mutterzelle fortbesteht und sich bei ihr derselbe Vorgang noch ein oder selbst mehrere Male wiederholen kann, bleibt die in der beschriebenen Weise entstandene Tochterzelle gewöhnlich ähnlich wie eine durch Sprossung entstandene junge Zelle in Verbindung mit der Mutterzelle, und kann sie sich nun entweder durch Sprossung oder in der geschilderten Weise durch endogene Bildung von Tochterzellen weiter vermehren." Auf diese Zellbildung komme ich weiter unten zurück.

Die Verff. weisen nun nach, daß in der früheren Gattung Mycoderma allerhand heterogene Formen untergebracht worden seien, welche nur das eine gemeinsame, die Kahmhautbildung, zeigten. Die Begrenzung der Gattung ist jetzt eine andere geworden und basiert auf der Bildung von Kahmhäuten und endogenen Zellen. Dadurch wird der Umfang ein ganz anderer und, um dies auch äußerlich anzudeuten, wird der Gattungsname Endoblastoderma vorgeschlagen. Die Einteilung der Gattung und die Unterscheidung der Arten wird am besten klar werden, wenn aus dem speziellen Teile die einzelnen Arten kurz charakterisiert werden.

Gattung Endoblastoderma.

I. Arten ohne Mycelbildung, welche keine alkoholische Gärung hervorrufen.

a) Aus gegorenen Flüssigkeiten isolierte, durch glatte Oberfläche der tiefer gelegenen Plattenkolonieen ausgezeichnete Arten, welche in Gelatine keine Verflüssigung bewirken.

1) E. amycoides I aus Lagerbier = Mycod. cerevisiae Hans. Diese Art entspricht der von Hansen reingezüchteten Form. Das Wachstumsoptimum liegt bei 25—27°, Abtötung erfolgt bei 55—60°. Auf das Verhalten in den verschiedenen Kulturen kann hier, wie bei den folgenden Arten, nicht eingegangen werden. Die Zellen sind etwa 8 μ lang und 4,5—5,5 μ breit.

2) E. amycoides II aus Moselwein. Dem vorigen Pilze ähnlich, durch geringe Unterschiede in den Kulturen ausgezeichnet. Zellen nur 6,3—7,2 μ lang und 3,6—4,5 μ breit.

3) E. amycoides III aus rotem Bordeauxwein. Zellen noch kleiner, 5,4—6,3 μ lang, 3,6—4,5 μ breit.

4) E. amycoides IV aus Bieressig. In Bierwürze sind die Zellen 7,2 × 4,5 μ, in den Kahmhäuten auf Bier 10,8 × 5,4 μ.

b) Aus dem Meere isolierter, die Gelatine verflüssigender Kahmpilz mit mycelähnlichen Ausläufern an den tiefer gelegenen Kolonieen.

5) E. liquefaciens aus Meerwasser. In jungen Kulturen etwa 7,2—8,1 × 4,5 μ, in älteren fast kugelig. Kahmhaut entwickelte sich nur auf Bier, nicht auf Wein. Auf Bierwürze erfolgte sehr schnelle Kahmhautbildung.

II. Durch Mycelbildung ausgezeichnete Arten, welche alkoholische Gärung hervorrufen.

a) Arten, welche nur Dextrose und Lävulose zu vergären vermögen. Dieselben stimmen sämtlich darin untereinander überein, daß sie die Gelatine nicht verflüssigen und daß sie auch bei Brüttemperatur zu wachsen vermögen.

6) E. glucomyces I aus Mageninhalt. Zellen 9 μ lang, 4,5 bis 5,4 μ breit. Auf Bier trat kräftige Kahmhautbildung auf, ebenso auf Würze.

7) E. glucomyces II aus Sauerkraut bezw. Preßhefe. Die Zellen sind in jungen Häuten 8—10 × 4,5—6,3 μ, in älteren Kulturen nur 6,3 × 4,5 μ. Das Charakteristikum gegenüber dem vorigen Pilze bilden die runzelig-faltigen, trocknen, grau- bis reinweißen Kahmhäute.

8) E. glucomyces III aus Sauerteig. Die Zellen sind sehr ungleich in Form und Größe, neben 12,6 × 3,6 μ messenden finden sich solche von 5,4—6,3 × 4,5 μ.

9) E. glucomyces IV aus Bordeauxwein. Auf Bier waren die Zellen 7,2—8,1 × 4,5 μ, in jungen Kulturen traten wieder weitgehendere Variationen auf.

b) Arten, welche außer Dextrose und Lävulose auch noch Maltose und Saccharose zu vergären vermögen und eine allmähliche Verflüssigung der Bierwürzgelatine hervorrufen.

10) E. pulverulentum aus Lagerbier = Mycod. cerevisiae, var. pulverulentum Beyer. Von allen anderen Arten zeichnet sich diese durch die hutförmigen Sporen und den obstartigen Geruch der Kolonieen aus. In Bierwürze entstand schon am zweiten Tage bei 20—27° eine weiße Kahmhaut. Ebenso fand auch auf Bier die ausgiebige Bildung einer solchen statt, selten auf Wein, wo sie auch ganz unterbleiben kann.

11) Monilia candida Hans. Wenn die Verff. diesen bekannten Pilz auch zu Endoblastoderma rechnen, so geschieht das auf Grund der endogenen Zellbildung. Auf sein weiteres Verhalten braucht nicht eingegangen zu werden.

Es war nun weiter wichtig, nachzuweisen, ob der Soorpilz, Saccharomyces albicans Reess, nähere verwandtschaftliche Beziehungen zu den Kahmhaut- oder zu den Hefepilzen zeige. Die

Stellung des Pilzes war von allen bisherigen Untersuchern sehr verschieden beurteilt worden, er war schon in den Gattungen Monilia, Mycoderma, Oïdium, Dematium untergebracht worden. Das Resultat der vorliegenden Untersuchung ist, daß der Pilz zu der Gattung Saccharomyces gehört. Und zwar beweist dies die Sporenbildung, wie sie für die Hefen charakteristisch ist. Es wurden von Soorkranken zwei, vorläufig als Formen bezeichnete Pilze isoliert, von denen die eine die Gelatine verflüssigt, die andere nicht; erstere ist die häufigere. Weitere Unterschiede zwischen beiden sind in der Arbeit selbst zu finden.

Aus Meerwasser konnte noch ein Kahmpilz isoliert werden, der zwar frühzeitige Kahmhautbildung, aber keine endogene Zellbildung zeigte. Er wird als Blastoderma salmonicolor bezeichnet. Die Kahmhäute sind lachsfarben. Die länglichen Zellen trugen an ein oder zwei Stellen kleine Stiele, auf denen sich längliche kleine Körper befinden; diese sind wohl als sporenartige Gebilde aufzufassen. Am ähnlichsten ist die geschilderte Form der beiden roten Mycodermaarten, welche Lasché beschrieben hat.

Wie wir sehen, stützt sich die Abgrenzung der Gattung Endoblastoderma auf den rätselhaften Vorgang der endogenen Zellbildung [1]). Dieser steht so einzig da in der Mykologie, daß es sich verlohnt, ihn einmal schärfer ins Auge zu fassen. Nach der Schilderung und der photographischen Abbildung geht der im Innern der Zelle entstandene Körper durch die Wandung hindurch. Man fragt sich unwillkürlich, wie kann ein Körper durch einen anderen hindurchgehen, ohne seine Form zu verändern? Besitzt die Wandung Poren oder eine Oeffnung, durch die der Hindurchtritt erfolgen kann? Darüber werden wir nicht aufgeklärt. Ref. hält den Vorgang überhaupt nicht für endogene Zellbildung, sondern erklärt ihn sich viel einfacher, wobei die Figuren seine Ansicht wesentlich stützen. Wenn nämlich eine Zelle so liegt, daß eine beginnende Aussprossung genau in die Längsachse des Mikroskops fällt, also nach oben liegt, so erscheint sie bei flüchtiger Beobachtung als ein im Innern der Zelle liegender glänzender Körper. Wächst sie jetzt allmählich, so treten Gleichgewichtsveränderungen auf, die Mutterzelle dreht sich um ihre Längsachse und die Tochterzelle (resp. der im Innern liegende glänzende Körper) rückt allmählich nach der Membran, tritt bei weiterer Drehung scheinbar durch diese durch und liegt endlich der Mutterzelle an. Von ihr entfernen kann sie sich nicht, weil sie ja noch mit ihr verwachsen ist. Ref. kann leider diese Ansicht nicht definitiv beweisen, da ihm das Untersuchungsmaterial fehlt. Ist aber dieselbe richtig, so fehlt damit das Hauptresultat der Arbeit und damit die neue Begrenzung der Gattung, und es bleiben lediglich die physiologischen Beobachtungen übrig.

Daß aber, selbst wenn die „endogene Zellbildung“ besteht, die Verff. nicht berechtigt sind, den neuen Namen Endoplastoderma zu geben, dürfte klar sein. Lindau (Berlin).

---

1) Vergl. dazu die Kritik von Dr. P. Lindner in „Wochenschrift f. Brauerei“. 1895. p. 27.

Wortmann, Julius, Die seitherigen Erfahrungen der Praxis mit reinen Hefen und die Konsequenzen, welche sich hieraus für die Züchtung sowie die Anwendung der Reinhefen ergeben. (Vortrag, gehalten auf dem 13. Deutschen Weinbau-Kongresse in Mainz 1894.)

Während die Betriebe der Brauerei und der Brennerei schon seit geraumer Zeit sich die günstigen Erfahrungen, welche durch das Hansen'sche Vergärungsverfahren im Laboratorium gemacht worden sind, zu nutze gemacht und in die Praxis eingeführt haben, sind auf dem Gebiete der Weinbereitung erst in der letzten Zeit diese großartigen Erfolge berücksichtigt worden. Seit wenigen Jahren erst ist man daran gegangen, die Moste durch im Laboratorium reingezüchtete Hefen vergären zu lassen. Bisher wurde bei der Vergärung der Moste auf die Hefe überhaupt nicht Rücksicht genommen, sondern man arbeitete einfach mit den unreinen Heferassen, welche von den Trauben herstammten und zufällig an ihnen hafteten. Dieser Gärung durch alle die Heferassen von unbekannter Herkunft, wie dem gleichzeitig eintretenden reichlichen Wachstume aller möglichen Schimmel- und Spaltpilze will man durch den Zusatz einer rein gezüchteten Hefe zum Moste entgegentreten und an ihre Stelle eine reinere Vergärung, die von vornherein einen bestimmten Charakter trägt, setzen. Weiterhin aber will man hierdurch auch die Entwickelung der für Geruch und Geschmack häufig gleich unangenehmen Stoffwechselprodukte der ursprünglich im Moste enthaltenen verschiedenen Organismen unterdrücken und somit ein in seinen Eigenschaften konstantes, reiner schmeckendes Gärprodukt erhalten.

Nachdem die diesbezüglichen Versuche im Laboratorium der Versuchsstation Geisenheim zu befriedigenden Resultaten geführt hatten, ging man daran, mit verschiedenen reingezüchteten Heferassen Versuche in der Praxis im Großen anzustellen. Da, wie gesagt, die dem Moste zugesetzten reinen Hefen bei der Gärung in Konkurrenz mit den schon darin befindlichen Gärungserregern treten sollen, so müssen die reingezüchteten Hefen 1) in genügender Menge, 2) in lebhafter Gärthätigkeit und 3) womöglich einem noch ruhenden Moste zugesetzt werden. Diese Bedingungen, besonders Punkt 3, waren aber in dem bis spāthin warmen und trockenen Herbste 1893, in welchem die Versuche in der Praxis angestellt wurden, sehr schwer zu erlangen. Denn infolge der warmen Witterung hatten sich die auf den Trauben sitzenden Hefen einmal sehr stark entwickelt und gelangten somit bereits in großen Mengen in die Maische, sodann aber setzte bei der hohen Temperatur die Gärung schon nach ganz kurzer Zeit ein, so daß in den weitaus meisten Fällen die reingezüchteten Hefen dem Moste erst zugesetzt werden konnten, wenn sich derselbe schon in Gärung befand.

Um dafür zu sorgen, daß die reingezüchteten Hefen dem Moste nicht etwa nur schwach gärend oder vielleicht zum Teil schon im Ruhezustande zugesetzt wurden, gab die Versuchsstation dieselben an die Praktiker nicht in richtig abgemessenen, für die Vergärung bestimmter Mostquanta nötigen Mengen ab, sondern jeder Praktiker erhielt die frisch herangezüchtete Hefe in einigen Litern sterilisierten

Mostes, erst wenn dieser Most mit der Gärung fast zu Ende war. Nach einer beigegebenen Gebrauchsanweisung mußte er dann diese Hefe unter Zugabe von nach und nach größeren Mengen Mostes in geeigneter Weise selber vermehren, bis er selbst für ganz große Mostquantitäten die nötige Menge von Hefe gewonnen hatte. Diese Methode war ja für den Praktiker etwas umständlich, aber er hatte so eine in kräftiger Gärthätigkeit befindliche Hefe in reichlicher Menge zur Verfügung.

In den Fällen, in denen es auf diese Weise gelang, die Reinhefe so in den Most zu bringen, daß sie von vornherein das Uebergewicht über die schon vorhandenen Hefen erhielt, blieben dann auch die Erfolge nicht aus. Fast durchgehends zeichneten sich die mit Reinhefezusatz vergorenen Moste durch eine schnellere und intensivere Gärung und ein volleres Bouquet vor den ohne Hefezusatz gärenden Mosten aus, das während der Hauptgärung am meisten bemerkbar war, nach der Gärung aber wieder mehr oder weniger abnahm. Besonders konnte eine wesentliche Geschmacksverbesserung durch Vergärung unter Hefezusatz bei den geringeren Mosten konstatiert werden, während Weine aus besseren Mosten durch Reinhefevergärung nur unwesentlich in ihrer Qualität gebessert waren.

Viel zahlreichere Versuche als mit Traubenmosten sind in der Praxis mit Hefezusatz bei der Herstellung von Obstweinen (Aepfel-, Birnen- und Kirschweinen) und Beerenweinen (Stachelbeer-, Johannisbeer-, Heidelbeerweinen) angestellt worden. Und hier sind in allen Fällen, in denen die Hefe überhaupt richtig zur Anwendung gelangen konnte, fast ausnahmslos günstige Erfolge zu verzeichnen. Besonders auf dem Gebiete der Aepfelweinbereitung haben sich die reinen Hefen außerordentlich bewährt. Dies ist auch sehr erklärlich, wenn man bedenkt, daß die Aepfel vor dem Keltern abgewaschen werden und daher auf ihren Schalen nur verhältnismäßig wenig Hefezellen in die Maische bringen, so daß die zugesetzte Reinhefe nur wenig Gärungserreger vorfindet, mit denen sie in Konkurrenz zu treten hat. Außerdem stehen die Obstweine an Gehalt an Bouquetstoffen bedeutend hinter den Traubenmosten zurück, und es können daher die von der zugesetzten Reinhefe erst gebildeten Bouquete viel prägnanter hervortreten. Es eignen sich deshalb die Obstmoste vorzüglich zu Versuchen mit reinen Heferassen in Rücksicht auf die Entscheidung von Fragen nach ihrer spezifischen bouquetbildenden Thätigkeit. Denn bekanntlich hatte sich bei den Laboratoriumsversuchen gezeigt, daß jeder Heferasse — abgesehen von den Verschiedenheiten in der Bildung von Alkohol, Glycerin u. s. w. — die Eigentümlichkeit innewohnt, während der Gärung ganz bestimmte, für sie charakteristische Geruchsstoffe, sog. „sekundäre Bouquetstoffe" zu entwickeln. Und so gaben denn auch die verschiedenen dem Moste zugesetzten Heferassen, ganz besonders während der Gärung, aber auch nachher dem fertigen Aepfelweine einen spezifisch auf die angewandten Weinhefearten hinweisenden Geschmack.

Aehnlich günstig lauten die Berichte, welche über Anwendung von Reinhefen bei der Schaumweinbereitung, sowie zur Umgärung von Weinen vorliegen. H. Kionka (Breslau).

Smith, W. G., Untersuchung der Morphologie und Anatomie der durch Exoasceen verursachten Sproß- und Blattdeformationen. (Forstlich-naturwissenschaftliche Zeitschrift. Bd. III. 1894. p. 420—27, 433—65, 473—82 mit 18 Textfig. und 1. Taf.)

Die durch Exoasceen hervorgerufene Hypertrophie ihrer Wirtspflanzen kann sich auf die Blätter allein beschränken (Taphrinaarten), oder sie kann sowohl Blätter als auch Sprosse ergreifen (Exoascusarten). Im letzteren Falle entstehen Hexenbesen, Deformationen einjähriger Zweige und Taschenbildung von Früchten.

Die Veränderungen, welche das Vorhandensein des Mycels im Blatte an den Geweben des Blattes hervorruft, bestehen bei Taphrina Sadebeckii, T. Betulae und T. polyspora nicht viel mehr als in dem Abwerfen der Cuticula, wodurch ein Abtrocknen der Blattgewebe stattfindet. T. coerulescens verursacht eine Vergrößerung der Epidermis, hat jedoch wenig Einwirkung auf Mesophyll und Nerven. T. carnea erzeugt beträchtliche Hypertrophie aller Blattgewebe, aber ohne Zellenvermehrung. T. aurea und Exoascus deformans bringen ebenfalls starke Hypertrophie des Blattes und Blattstieles, jedoch mit Zellenvermehrung, hervor. E. Pruni bewirkt starke Hypertrophie des Blattstieles und der Hauptrippen, läßt jedoch die Blattmesophyllgewebe unberührt. E. Cerasi und andere hexenbesenbildenden Exoasci verursachen unvollkommene Bildung und Vergrößerung der Zellen des Mesophylls und der Nervengewebe, allein die Askenentwickelung verursacht außer der Abtrocknung durchaus keine weiteren Veränderungen.

Hexenbesen entstehen durch Hypertrophie, verursacht durch den Reiz des Exoascus. Die morphologischen Aenderungen, welche dadurch in dem Wachstume der Sprosse bewirkt werden, bestehen hauptsächlich in der Vermehrung der Länge und Dicke der einzelnen Zweige und besonders in der Anschwellung ihrer Basis, ferner in der zahlreichen Entwickelung von normalen Knospen und Laubtrieben, in dem Fehlen von Blütensprossen, in dem häufigen Absterben von jungen Zweigen, in der Entwickelung von schlafenden Knospen im Zweige und in der negativen Geotropie. Die anatomischen Veränderungen, welche durch die Einwirkung des Parasiten an den Hexenbesenzweigen hervorgerufen werden, sind folgende: Die Zunahme an Länge und Dicke der Hexenbesenorgane wird hauptsächlich durch Vermehrung und Vergrößerung der parenchymatischen Gewebe verursacht, und zwar besonders des Markes, der Mark- und Rindenstrahlen und des Rindenparenchyms. Die Gefäßbündelelemente sind weniger vermehrt und vergrößert als die parenchymatischen. Die Sklerenchymelemente neigen zur Abnahme und schwachen Ausbildung, ihre Wandungen bleiben weniger verdickt, und ihre Lumina sind vergrößert. Die Phloemelemente bleiben reicher an Protoplasma; krystallführende Zellen treten zahlreicher auf. Die Tracheen zeigen sich vermehrt und weniger ausgebildet, indem ihre Glieder verkürzt und unregelmäßig verbunden sind; ihre Wandverdickungen sind weniger gut entwickelt. Die Holzfasern sind viel weniger zahlreich und ihre Wan-

dungen bleiben dünner. Der Verlauf der Längselemente ist durch die vergrößerten Markstrahlen gestört.

Diese Veränderungen finden sich nicht nur bei den Hexenbesen, bei denen das Mycel in den inneren Geweben der Achsenorgane wächst, wie z. B. in den Hexenbesen der Prunusarten, sondern auch dort, wo das Mycel sich nur zwischen der Cuticula und den Epidermiszellen ausbreitet, wie z. B. bei den Hexenbesen der Alnus- und Betulaarten.

Die hypertrophierenden Exoasceen zeigen sich viel mehr geneigt, eine Hemmungsbildung oder ein Verharren im jugendlichen Zustande zu verursachen, als neue Eigenschaften hervorzurufen. Sie veranlassen eine Hemmung in der Ausbildung der jungen Gewebe, die Zellen bleiben plasmareicher und länger teilungsfähig, behalten einfachere Form, vergrößern sich, teilen sich zuweilen nachträglich noch einmal, differenzieren sich aber vielfach nicht zu höheren Gewebsformen. Dies tritt um so deutlicher hervor, je stärker die Einwirkung des Parasiten und je jugendlicher das befallene Organ ist.

Brick (Hamburg).

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Fränkel, C., Beiträge zur Kenntnis des Bakterienwachstumes auf eiweißfreien Nährböden. (Hygienische Rundschau IV. 1894. p. 769).

Die von Fränkel benutzte Nährlösung enthielt im Liter 5 g Kochsalz, 2 g Kaliumbiphosphat, 6 g Ammonium lacticum und 4 g asparaginsaures Natron. An Stelle des letzteren trat später ausschließlich das käufliche Asparagin, an Stelle des phosphorsauren Kalisalzes wurde viefach das neutrale Natriumphosphat verwendet. Die Flüssigkeit, durch verdünnte Natronlauge schwach alkalisch gemacht, bleibt auch bei lang dauernder Erhitzung völlig klar. Auf diesem eiweißfreien und schwefelfreien Nährboden wuchsen von Saprophyten namentlich gut der Micrococcus prodigiosus, der Heubacillus, der Wurzelbacillus, der Bacillus cyanogenus, acidi lactici, Proteus vulgaris u. s. w.; in geringerem Grade wuchsen die Leuchtbakterien. Von den pathogenen Organismen zeigten besonders üppiges Wachstum das Bacterium coli, der Bacillus pyocyaneus, der Bacillus Friedländer, der Rotzbacillus und die sämtlichen Vibrionen; erheblich geringer war das Wachstum des Bacillus anthracis und des Streptococcus pyogenes; kaum angedeutet beim Typhusbacillus, Diphtheriebacillus und den Streptokokken; gänzlich vermißt wurde es beim Tetanusbacillus, dem Bacillus des Schweinerotlaufs, der Mäuseseptikämie und der Hühnercholera. Die genannten

Pigmentbakterien produzierten reichlich Farbstoff; die Kulturen des Bacterium coli und die Vibrionen färben die Nährlösung gelblich; bei den Vibrionen, dem Bacillus cyanogenus, dem Bacterium coli, dem pyocyaneus und dem Rotzbacillus zeigte sich Oberflächenwachstum und Häutchenbildung. Von Interesse ist, daß der Typhusbacillus auf diesen Nährböden kaum, das Bacterium coli dagegen rasch und üppig wächst. Der Tuberkelbacillus gedeiht auf den vereinfachten Nährböden sehr üppig in Form einer dicken, gefalteten, schneeweißen Haut, wenn denselben 3—4 Proz. Glycerin zugefügt waren. Dagegen ist der Zusatz von Schwefelverbindungen unnötig. Bei der Verwendung noch einfacherer Lösungen zeigte sich, daß der Choleravibrio und das Bacterium coli in 4-promill. Lösungen von asparaginsaurem Natron, wenn auch kümmerlich, gedeihen. Diese Beobachtungen sind aber nach Fränkel mit Vorsicht aufzunehmen, weil vielleicht an den Wandungen der benutzten Gefäße noch anorganische Substanzen vorhanden waren und weil die von Agarkulturen abgeimpften Mikroorganismen selbst und die ihnen anhaftenden Spuren des Nährbodens ein gewisses Nährmaterial darstellen. Choleravibrio und Bacterium coli zeigen eine viel erheblichere Vermehrung, wenn der Lösung von asparaginsaurem Natron ein Zusatz von Phosphat gemacht wurde. Das Kochsalz, d. h. das Chlor scheint in der Regel entbehrlich zu sein in Lösungen, welche Asparagin, Natriumphosphat und Ammoniumlactat enthielten und auf welchen alle genannten Bakterienarten mit Ausnahme des Tuberkelbacillus, der noch Glycerin beansprucht, in reichlichem Maße gedeihen. Die durch Proteïnwirkung giftigen Bakterien zeigen diese Eigenschaft auch auf eiweißfreien Nährböden. Aus Tuberkelbacillen- und Rotzbacillenkulturen auf eiweißfreien Nährböden wurde Tuberkulin und Malleïn hergestellt, welche sich vollkommen so verhielten wie die aus Bouillonkulturen hergestellten Präparate. Gerlach (Wiesbaden).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

Dr. Wilhelm Windisch.

Allgemeines über Bakterien und andere Mikroorganismen.

Lupi, A., Schizomiceti fotogeni. (Atti della Società ligustica di scienze naturali et geografiche. Vol. V. 1894. Disp. 3)

Mayer, Adolf, Lehrbuch der Agrikulturchemie. Zweiter Teil. 1. Abt. Die Bodenkunde in zehn Vorlesungen. Zum Gebrauch an Universitäten und höheren landwirtschaftl. Lehranstalten, sowie zum Selbststudium. Lex.-8. Heidelberg (C. Winter's Universitätsbuchhandlung) 1895. 4 M.

Rénault, B., Sur quelques bactéries du Dinantien (Culm). (Comptes rendus hebdomadaires des séances de l'académie des sciences. T. CXX. 1895. No. 3. p. 162.)

Systematik, Morphologie und Biologie der Bakterien und anderer Mikroorganismen.

Buckmaster, George A., Ursprung und Beschaffenheit gewisser Bakteriengifte. (Biol. Centralbl. Bd. XV. 1895. No. 3. p. 96.)

Dieudonné, Neuere Beiträge zur Kenntnis der Biologie der Bakterien. (Biol. Centralbl. Bd. XV. 1895. No. 3. p. 103.)

Kopp, Karl, Ueber Wachstumsverschiedenheit einiger Spaltpilze auf Schilddrüsennährböden. (Centralbl. f. Bakteriol. u. Parasitenk. Erste Abt. Bd. XVII. 1895. No. 2/3. p. 81—83.)

Neumann, R., Ueber die Entwickelungsgeschichte der Aecidien und Sporangien der Uredineen. (Hedwigia. Bd. XXXIII. 1894. Heft 6.)

Allgemeine Gärungsphysiologie.

Börsch, Karl, Beitrag zur Kenntnis der Bakterien des Weines. Beitrag zur Kenntnis der Hefen. 8°. 32 p. [Inaug.-Diss.] Erlangen 1894.

Cantamessa, Fil, L'alcool: Fabbricazione e materie prime. 8°. XII, 307 p. Milano (Ulrico Hoepli edit.) 1895.

Geyter, G. de, Animaux. Levures. (La distillerie française. Année XII. 1895. No. 557. p. 58.)

Grimbert, L., Fermentation anaérobie produite par le Bacillus orthobutylicus, ses variations sous certaines influences biologiques. (Journal de Pharmacie et de Chimie. 1894. p. 281—288.)

Molisch, H., Die mineralische Nahrung der niederen Pilze. Abh. I. (Sep.-Abdruck aus Sitzungsberichte der k. Akademie der Wissenschaften. 1895.) 8°. 21 p. Leipzig (G. Freytag) 1895.

Prior, E., Ueber die Umstände, welche den Vergärungsgrad des Bieres bei der Haupt- und Nachgärung bedingen. (Bayerisches Brauer-Journal. 1895. No. 1 ff.)

Molkerei.

Backhaus, Rudolf, Versuch über verschiedene Konservierungsmethoden von Milchproben und die Verflüssigung geronnener Milch mittels Ammoniak. (Molkerei-Zeitung. 1895. No. 1. p. 53.)

Beckurts, Ueber Milchsterilisation und über die Fettausscheidung aus sterilisierter Milch. (Apothekerzeitung. 1894. No. 67.)

Bernstein, Alexander, Die Herstellung eines neuen Getränkes aus Milch. (Milchzeitung. Jahrg. XXIV. 1895. No. 6. p. 85.)

Grotenfeld, Gösta, The principles of modern dairy practice from a bacteriological point of view. Authorized american edition by F. W. Woll. New York 1894.

Lezé, R. u. Hilsont, E., Das Verhalten der Milch gegen Labflüssigkeit. (Milchzeitung. Jahrg. XXIV. 1895. No. 7. p. 107.)

Rotsch, T. M., Some of the chemical and bacteriological characteristics of milk. (Transactions of the assoc. of Americ. physic. 1894. p. 185—192.)

Sartori, Giuseppe, Chimica e tecnologia del caseificio. II. Tecnologia. Torino (Unione tipografico-editrice) 1895.

Weigmann, H., Bericht über die Fortschritte auf dem Gebiete der Milchbakteriologie und Milchhygiene. (Forschungsberichte über Lebensmittel. Bd. I. 1895. p. 533—539.)

Wilckens, Ueber die Verteilung der Bakterien in der Milch durch die Wirkung des Centrifugierens. (Oesterr. Molkerei-Zeitung. 1894. No. 14.)

Brauerei.

Prior, Eugen, Reinhaltung und Reinigung der Betriebshefen. (Bayerisches Brauer-Journal. Jahrg. V. 1895. No. 6. p. 62.)

Weinbereitung.

Müller-Thurgau, H., Ueber eine bisher noch nicht beschriebene Weinkrankheit. (Weinbau und Weinhandel. 1894. p. 641.)

Roos, L., Influence de la température des fermentations viniques sur la qualité des vins. (Contin.). (Revue de viticulture. Année II. Tome I. 1894. p. 15—16.)

Schulze, C., Versuche über das Pasteurisieren von Wein. (Berichte der kgl. Lehranstalt für Obst-, Wein- und Gartenbau zu Geisenheim a. Rh. für 1893/94. p. 64—67.)

Nahrungs- und Genußmittel, Konserven etc.

Anclés, Louis Edgar, Das Konservieren der Nahrungs- und Genußmittel. Fabrikation von Fleisch-, Fisch-, Gemüse-, Obst- etc. Konserven. Praktisches Handbuch für Konservefabriken, Landwirte, Gutsverwaltungen, Eßwarenhändler, Hausverwaltungen etc. etc. Mit 39 Abbildgn. Wien, Pest, Leipzig (A. Hartleben's Verlag) 1895.

Kuhn, E. W., On the rational sterilisation of alimentary liquids. (Journal of the chemical Industry. 1894. p. 1133—1138.)

Thoms, H., Untersuchung von Konservenbüchsen. (Berichte der pharmazeut. Gesellsch. 1894. p. 87.)

Durch Parasiten verursachte Krankheiten der Pflanzen.

Daille, L., Observations relatives à une note de M. M. Prillieux et Delacroix, sur une gommose bacillaire des Vignes. (Compt. rend. des séances de l'Acad. des sciences de Paris. T. CXIX. 1894. No. 18.)

Dufour, J., Quelques observations sur le parasitisme du Botrytis cinerea. (Revue internationale de viticulture et d'oenologie. T. I. 1894. No. 10.)

Henriques, Quadro sinoptico das Ustilagineas e das Uredineas de Portugal. (Boletim da Sociedade Broteriana Coimbra. XI. 1895. p. 210—257.)

Luizet, G., Nouveau procédé de destruction du phylloxera. (Vigne améric. 1894. No. 9. p. 264—266.)

Mangin, Louis, Sur une maladie des Ailantes dans les parcs et promenades de Paris. (Compt. rend. 1895. No. 16.)

— —, Sur la maladie du Rouge dans les pépinières et les plantations de Paris. (l. c. No. 18.)

Prunet, A., La maladie du Mûrier. (Compt. rend. hebdom. des séances de l'Acad. des sciences. T. CXX. No. 4. 1895. p. 222.)

Ravaz, L., Sur la résistance au Phylloxéra. (Revue de viticulture. 1894. No. 52.)

Rostrup, E., Phoma-Angriff bei Wurzelgewächsen. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. IV. 1894. p. 322—323.)

Sasse, Otto, Einige Beobachtungen aus dem praktischen Betriebe betreffs Auftretens der Herz- oder Trockenfäule. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. IV. 1894. p. 359—363.)

Silva, Ercole, Nuove esperienze sui mezzi atti a combattere la tignuola della vite. (Annuario della reale stazione enologica sperimentale d'Asti pel 1892/93.)

Strohmer, Friedrich, Ueber den gegenwärtigen Stand der Nematodenkrankheit der Zuckerrübe in Oesterreich-Ungarn. Gutachten für das hohe k. k. Ackerbauministerium. (Sep.-Abdruck aus Mitteilungen der chemisch-technischen Versuchsstation für Rübenzucker-Industrie in der österreichisch-ungarischen Monarchie. Bd. LVII. 1895.) 8°. 15 p.

Toscana, Dario, La questione filosserica nella regione emiliana. (Atti del quarto congresso delle rappresentanze agrarie e degli agricoltori della regione emiliana e marchigiana, tenuto in Bologna nei giorni 3, 4, 5, 6 e 7, Giugno 1894.)

Trabut, L., Sur une Ustilaginée parasite de la Betterave (Oedomyces leproides). (Revue générale de Botanique. T. VI. 1894. No. 70.)

Tubeuf, K., Frhr. v., Pflanzenkrankheiten, durch kryptogame Parasiten verursacht. Eine Einführung in das Studium der parasitären Pilze, Schleimpilze, Spaltpilze und Algen. Zugleich eine Anleitung zur Bekämpfung von Krankheiten der Kulturpflanzen. gr. 8°. Berlin (Julius Springer) 1895. 16 M.

Vuillemin, Paul, Sur une maladie mycobacterienne du Tricholoma terreum. (Compt. rend. des séances de l'Acad. des sciences de Paris. T. CXIX. 1894. No. 14.)

Watts, Alfr. G., La maladie de la canne au Brésil. (La sucrerie indigène et coloniale. T. XLV. 30e Année. 1895. No. 7. p. 168.)

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien.

Christmas, J. de, Expériences bacteriologiques avec la solution saline électrolysée. In-8°. 12 p. Paris (libr. Chaix) 1895.

Laws, J. Parry, Notiz über die relative antiseptische Wirkung der phenylsubstituierten Fettsäuren. (Journal of Physiologie. Bd. XVII. 1895. No. 5.)

Maumené, E., Destruction du phylloxéra par la méthode botanique. (Emploi du sumac des corroyeurs) In-18. Paris (J. Michelet) 1894.

Oppermann, G., Vorschlag zu einem rationellen Desinfektionsverfahren mittels Quecksilberchlorid. (Apotheker-Zeitung. Bd. X. 1895. p. 36—37.)

Polak, Jakobus, Sterilisation von Flüssigkeiten in der Apotheke. (Nederlandsche Tijdschrift f. Pharm. Bd. VI. p. 357—365.)

Ravizza, Francesco, Sull' azione de solfito di calcio e del bisolfito di potassio sulla fermentatione alcoolica. (Annuario della reale stazione enologica sperimentale d'Asti pel 1892/93.)

— —, Sul azione di alcuni antisettici sui fermenti alcoolici e su quelli delle malattie del vino. (l. c.)

Schiller-Tietz, Die Bekämpfung der Pflanzenparasiten durch Lysol. (Fühling's landwirtschaftl. Zeitung. 1894. No. 19. p. 603—605.)

Sempolowski, A., Beiträge zur Bekämpfung der Kartoffelkrankheit. (Fühling's landwirtschaftl. Zeitung. 1894. No. 19. p. 323—325.)

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie und Parasitenkunde.

Zweite Abteilung:

Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie und Pflanzenpathologie.

In Verbindung mit

Prof. Dr. **Adametz** in Krakau, Dr. W. M. **Beyerinck** in Delft, Prof. Dr. **A. B. Frank** in Berlin, Dr. **v. Freudenreich** in Bern, Prof. Dr. **Emil Chr. Hansen** in Kopenhagen, Dr. **Lindner** in Berlin, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Prof. Dr. **Stutzer** in Bonn, Privatdocent Dr. **Wehmer** in Hannover, Dr. **Weigmann** in Kiel, Dr. **Wilfarth** in Bernburg und Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg

herausgegeben von

Dr. O. Uhlworm in Cassel.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

I. Band. **Jena**, den 6. April 1895. **No. 7/8.**

Preis für den Band (26 Nummern) 16 Mark.

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde“ richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige ***Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.***

Original - Mittheilungen.

Ueber Nitrat zerstörende Bakterien und den durch dieselben bedingten Stickstoffverlust.

[Mitteilung aus der landwirtschaftlichen Versuchsstation in Bonn.]

Von

R. Burri und **A. Stutzer.**

Bei der großen Bedeutung, welche den salpetersauren Salzen als Stickstoffquelle für die Ernährung höherer Pflanzen zukommt, ist es erklärlich, daß sich die bakteriologische Forschung verhältnismäßig frühzeitig den Fragen der Entstehung und weiteren Schicksale dieser

wichtigen Verbindungen zugewendet hat, zumal die von gewisser Seite gemachten Einwände, es handle sich speziell bei der Bildung von Nitriten und Nitraten um eine langsame Oxydation, d. h. einen rein chemischen Prozeß, auf experimentellem Wege entgiltig widerlegt worden waren. Winogradsky[1]) ist es sodann gelungen, aus Erdproben aller Weltteile 2 Organismen rein zu züchten, von denen der eine Ammoniaksalze zu salpetrigsauren Salzen und der zweite die letzteren zu salpetersauren Salzen oxydiert. Die aus verschiedenen Gegenden stammenden Organismen zeigten dabei so geringe Abweichungen, daß W. sich veranlaßt sah, sämtliche Nitrit bildenden Formen in eine Art und sämtliche Nitrat bildenden in eine zweite Art zusammenzufassen.

Ob die von W. beschriebenen Arten wirklich die einzigen, mit diesem spezifischen Oxydationsvermögen ausgerüsteten sind, oder ob es noch andere in gleichem Sinne wirkende Arten giebt, wird die Forschung der Zukunft lehren. Immerhin scheint die Anzahl derselben eine äußerst beschränkte zu sein.

Umgekehrt verhält es sich bei der Reduktion der Nitrate. Nach einzelnen über diesen Punkt angestellten Untersuchungen scheint das Vermögen, Nitrate zu Nitriten zu reduzieren, ein im Bakterienreiche weitverbreitetes zu sein; dabei ist aber zu bemerken, daß der Prozeß sich häufig, nach den Angaben der betreffenden Versuchsansteller zu schließen, mit derartig minimalen Quantitäten vollzieht, daß viele der als reduzierend beschriebenen Arten zur Erklärung gewisser Erscheinungen nicht herangezogen werden können. Was die Weiterreduktion der Nitrite zu Ammoniak oder zu elementarem Stickstoffe betrifft, so geht aus den zerstreuten Litteraturangaben hervor, daß nur eine beschränkte Anzahl von Arten mit den entsprechenden Fähigkeiten ausgerüstet sein dürfte, daß diese Arten jedoch im Boden, in der Luft, im Dünger u. s. w. eine weite Verbreitung zu finden scheinen. Der letztgenannte Modus der Salpeterreduktion durch Bakterien, wobei zuerst Nitrit entsteht und im letzten Stadium des Prozesses der N als solcher entweicht, ist selbstredend von schwerwiegendster Bedeutung für die Pflanzenernährung, denn einmal auf dem Wege der Reduktion entstandene Ammoniaksalze und Nitrite haben unter günstigen Verhältnissen immer wieder Aussicht, durch nitrifizierende Organismen in die für die höheren Pflanzen einzig günstige Form des Salpeters übergeführt zu werden.

Die Untersuchungen, über welche wir in Folgendem berichten, beziehen sich ausschließlich auf jene Art der Salpeterreduktion, bei welcher elementarer Stickstoff abgespalten wird. Der Kürze halber bezeichnen wir diesen Prozeß im Verlaufe unserer Darlegungen auch als Salpetervergärung oder Salpeterzerstörung.

Daß bei Anwesenheit von Nitriten und Nitraten auf Düngerhaufen, wie auch im Ackerboden Verluste von N eintreten können, war seit längerer Zeit bekannt und eine Reihe von Arbeiten haben in dieser

1) Annales de l'Inst. Pasteur. 1890. p. 213, 257, 760. 1891. p. 92, 577.

Beziehung übereinstimmende Resultate ergeben [1]). Die Ergebnisse dieser auf rein chemischem Wege geführten Untersuchungen wurden dem damaligen Standpunkte der mikrobiologischen Forschung entsprechend auf Reduktionsvorgänge rein chemischer Natur zurückgeführt. Französische Forscher haben dann zuerst darauf hingewiesen, daß in bebauten Böden namhafte N-Verluste infolge der Zersetzung von Nitraten durch Bakterien eintreten können.

Direkte Veranlassung zur rein bakteriologischen Behandlung der Frage gab uns eine Mitteilung von Herrn Prof. Wagner in Darmstadt, welcher beobachtet hatte, daß Chilisalpeter bei Düngungsversuchen seine Wirkung vollständig versagte, wenn gleichzeitig Pferdemist zugegeben wurde.

Daraufhin stellte W. fest, daß in einem Gemische von Wasser, Pferdedung und Salpeter nach einigen Tagen letzterer kaum noch zur Hälfte der ursprünglichen Menge vorhanden war und in den folgenden Tagen noch weiter zurückging. Wurde das Ganze gleich nach der Mischung durch genügend langes Kochen sterilisiert, so ließ sich nach beliebig langer Zeit die gesamte ursprüngliche Salpetermenge bestimmen. Es mußten also in den Pferdefaeces regelmäßig Organismen vorhanden sein, welchen das Vermögen innewohnte, den Salpeter zu zerstören. Diese Organismen zu isolieren, stellten wir uns zur Aufgabe.

Gleichzeitig benutzten wir, anknüpfend an eine Mitteilung von Breal [2]), zu gleichem Zwecke ein anderes Ausgangsmaterial, nämlich Getreidestroh.

Nach B. findet sich auf demselben immer ein „Ferment", welches Nitrate zu reduzieren imstande ist. Legt man Stroh in Wasser und giebt etwas Nitrat zu, so verschwindet dasselbe nach einiger Zeit; später kann man immer mehr Nitrat zugeben und verschwinden lassen. Es soll dabei auch freier Stickstoff entweichen. Erhitzt man das Stroh vorher oder behandelt man es mit Sublimat, so findet keine Nitratreduktion statt. Diesen Versuch zu kontrollieren und ein allfällig vorhandenes „organisiertes Ferment" einzuzüchten, bildete den zweiten Teil unserer Aufgabe.

Die übrigen unser Arbeitsgebiet berührenden Litteraturangaben sind nicht zahlreich.

Heraeus [3]) hat bei seinen Versuchen über reduzierende und oxydierende Eigenschaften der Bakterien oft Reduktion zu Nitrit und Ammoniak beobachtet. An einigen Stellen spricht derselbe von einem Aufbrauch der Nitrate ohne Nitritbildungen; es ist daher nicht unmöglich, daß ihm ähnlich wirkende Arten, wie die von uns unten beschriebenen, vorgelegen haben. Allerdings fehlt jegliche Angabe über das so auffallende Phänomen der Gasbildung, das auch bei Anwendung von geringeren Mengen Nitrat (0,8 g $Ca(NO_3)_2$ per Liter) sich dem Versuchsansteller aufdrängen mußte.

---

1) Zusammenstellung dieser Arbeiten siehe: R. Burri, E. Herfeldt und A. Stutzer, Bakteriologisch-chemische Forschungen über die Ursachen der Stickstoffverluste etc. (Journal für Landwirtschaft. 1894. p. 336—337.)

2) C. R. T. CXIV. 1892. p. 681.

3) Z. f. Hyg. und Inf. Bd. I. p. 193.

R. Warington[1]) hat 25 Bakterienarten auf reduzierendes Vermögen untersucht, worunter eine Reihe von pathogenen. Bei keiner wurde Gasentwickelung beobachtet. Nährlösung war Bouillon mit 5 g KNO_3 im Liter.

Unter 32 reduzierenden Arten, die Frankland[2]) beschrieb, war keine, welche die Reduktion weiter als bis zur Nitritbildung ausführte.

Alf. Springer[3]) berichtet über ein „Ferment“, welches er in Auszügen von Wurzeln oder Stengeln der Tabakpflanze beobachtete, wenn er dieselben der spontanen Gärung überließ. Es wurden durch dasselbe nicht nur die schon vorhandenen, sondern auch neu zugesetzte Nitrate zerlegt. Das „Ferment“ wirkte bei 35—40° C am günstigsten und bestand aus kleinen cylindrischen, an den Enden abgerundeten Stäbchen mit eigentümlicher, unter Krümmung des Stäbchens erfolgender Bewegung. Obgleich ein Anaërobium, wurde es durch Luft nicht getötet, sondern nur auf einige Zeit „betäubt“.

Genauere Angaben machen Gayon und Dupetit[4]) über ein „reduzierendes Ferment“, das ebenfalls ein Anaërobium sein soll und bei 35—40° C am stärksten wirkte. Für das Zustandekommen der Gärung war organische Substanz absolut notwendig. Am geeignetsten wirkte Zucker und Alkohol, besonders Propylalkohol. Unter günstigen Umständen zeigte die Salpeterreduktion durch dieses Ferment den Charakter einer energischen Gärung mit reichlicher Gasbildung. Nach dem Verf. ist das Gas reiner Stickstoff, der den größten Teil des ursprünglichen Nitratstickstoffes repräsentiert; der Rest soll in NH_3 und vielleicht Amidoderivate der angewendeten organischen Substanz übergehen.

Quantitative Bestimmungen über die Zusammensetzung des bei einem ähnlichen Reduktionsprozesse entstehenden Gases veröffentlichten Dehérain und Maquenne[5]).

Diese Verff. setzten zu ihrem Nährboden immer Zucker und erhielten daher neben N immer eine große Menge CO_2. Unter Umständen trat auch H als Hauptbestandteil des Gases auf, währenddem der N nur in unbedeutender Menge vorhanden war.

Zweifellos haben die Verff. nicht mit einer Reinkultur, sondern mit einem Gemische verschiedener gärungserregender Bakterien gearbeitet, und so wechseln die erzeugten Produkte mit der Art, die gerade die Vorhand hatte. Das „Ferment“ soll sich namentlich in Böden finden, die reich sind an organischen Substanzen und keinen freien O enthalten. Diesem letzteren Umstande zufolge sollen N-Verluste im Boden mehr der Fortführung gebildeter Nitrate durch das Grundwasser, als durch nachträgliche Reduktion im angegebenen Sinne zuzuschreiben sein.

Die neueste Arbeit auf diesem Gebiete stammt von Giltay und

---

1) The chemical actions of some microorganisms. London 1888. — Ref. im Centralbl. f. Bakt. u. Paras. Bd. VI. p. 498.
2) Ref. in dies. Centralbl. Bd. XII. p. 864.
3) Ber. der deutsch. chem. Ges. XVI. 1. p. 1228.
4) C. R. 1882. XDV. p. 644 u. 1365.
5) C. R. XCV. p. 691, 732, 854.

Aberson[1]). Dieselben behandeln einen Bacillus, der sowohl in nitrathaltiger Bouillon, wie auch in künstlicher Nährlösung größere Mengen von Salpeter so zersetzt, daß fast der gesamte Salpeterstickstoff in Form von gasförmigem Stickstoff abgespalten wird. Wir werden auf diese interessante Abhandlung später noch mehrfach zu sprechen kommen. Leider sind die kulturellen Eigenschaften des Bacillus nach Art der französischen Schule sehr stiefmütterlich behandelt, so daß wir z. B. nur aus einer ganz nebensächlich hingestellten Bemerkung entnehmen mußten, daß der Bacillus zu den relativ schnell verflüssigenden gehört. Diese Bemerkung genügte aber, um allfällige Identifizierungsversuche zwischen jener Art und den von uns weiter unten beschriebenen Arten als überflüssig erscheinen zu lassen, da die letzteren selbst nach Monaten die 10-proz. Gelatine nicht erweichen. Soweit aus dieser Abhandlung hervorgeht, entsprechen auch die Bakterienbeschreibungen der neueren Arbeiten von Gayon und Dupetit[2]) nicht den Anforderungen, die man an solche stellen muß, so daß wir in Hinsicht auf die Litteraturzusammenstellung wohl zu der Aeußerung berechtigt sind: Es existieren bis jetzt über Bakterien, welche Nitrate unter N-Abspaltung zerlegen, keine derartig vollständigen Beschreibungen, daß es möglich wäre, an Hand derselben sich über die Zugehörigkeit neu isolierter Arten zu schon beschriebenen zu orientieren.

A. Isolierung von Nitrat zerstörenden Bakterien aus frischen Pferdefaeces.

a) Nährböden.

Behufs Wiederholung der Wagner'schen Versuche verwendeten wir ein Gemisch von Leitungswasser, frischen Pferdefaeces und $NaNO_3$ im Verhältnis

100 g Wasser
5 „ Faeces
0,32 „ $NaNO_3$.

Wurde dieses Gemisch nicht sterilisiert in den Thermostaten von 30° gestellt, so trat meist innerhalb 24 Stunden Gärung ein und nach 5—10 Tagen war weder salpetrige, noch Salpetersäure mehr nachzuweisen. Wir wichen in der Folge nicht von dieser günstigen Zusammensetzung ab und benutzten das gleiche Gemisch auch als vorrätigen flüssigen Nährboden, der nach diskontinuierlicher Sterilisation für unsere Zwecke genügende Dienste leistete.

Als wir dasselbe Gemisch, welches aber anstatt der oben angegebenen Salpetermenge die entsprechende Menge salpetrigsaures Natrium enthielt, in nicht sterilisiertem Zustande bei 30° C sich selbst überließen, trat ebenfalls Gärung, jedoch mit weniger lebhaftem Charakter ein. Wahrscheinlich hatte das Nitrit auf gewisse Organismen, welche bei dem Gärungsvorgange eine Rolle spielten, entwicke-

1) Extrait des Archives Néerlandaises. T. XXV. p. 341—361.

2) Recherches sur la réduction des nitrates par les infiniment petits. Nancy (Berger-Levrault u. Cie.) 1886.

lungshemmend eingewirkt. Da übrigens bei der Zerstörung von Nitraten in erwähntem Sinne das Nitrit immer als Zwischenprodukt auftritt, wie sich an Hand von gärenden Kulturen leicht nachweisen läßt, so war es interesselos, sich mit Kulturen noch besonders zu befassen, denen ursprünglich anstatt Nitrat Nitrit zugesetzt worden war.

An Stelle des oben erwähnten Gemisches war es in vielen Fällen wünschenswert, ein klares, flüssiges Substrat zu besitzen, welches dem ersteren in der Zusammensetzung möglichst nahe kam. Um dieses zu erreichen, kochten wir 100 g Faeces mit 2 Liter Wasser eine halbe Stunde lang im Dampftopfe und filtrierten. Es resultierte eine klare, neutrale Lösung; ein Teil derselben wurde auf den Gehalt von 0,32 Proz. $NaNO_3$ gebracht. Dieser Nährboden schien aber aus Gründen, denen wir nicht weiter nachforschten, unseren Gärungserregern nicht sonderlich zu behagen, denn nach Impfung mit Material aus in Gärung begriffenen Kulturen trat die Reduktion des Nitrats sehr unregelmäßig und oft unvollständig ein.

In jeder Beziehung zufrieden gestellt wurden wir indessen durch Verwendung einer schwach alkalischen 0,32-proz. Nitratbouillon, in welcher die Gärung sich mit großer Regelmäßigkeit und zugleich quantitativ vollzog.

Den gleichen Prozentsatz von $NaNO_3$ setzten wir mitunter auch zu Gelatine oder Agar und zwar entweder schon bei Herstellung der betreffenden Nährböden oder auch erst auf sterilem Wege bei Verwendung der einzelnen Portionen.

b) Schaumbildung.

Ueberläßt man das erwähnte Gemisch von Wasser, Pferdefaeces und Nitrat sich selbst bezw. der spontanen Gärung, so tritt an der Oberfläche der Flüssigkeit nach 24 bis 2×24 Stunden ein großblasiger, massiger Schaum auf, der sich mehrere Tage hält, um dann wieder zu verschwinden. Unsere Vermutung, daß das Auftreten dieses Schaumes mit der Salpeterzersetzung im Zusammenhange stehe, wurde durch folgende Versuche bestätigt.

Es wurden in den Thermostaten gestellt:

a) 1 Kolben mit 0,32 g $NaNO_3$
5 „ Pferdefaeces
100 ccm Leitungswasser.

b) 1 Kolben mit 0,25 g $NaNO_2$
5 „ Pferdefaeces
100 ccm Leitungswasser.

c) 2 Kolben mit 5 g Pferdefaeces
100 ccm Leitungswasser.

Nach 24 Stunden war bei

a) heftige Gasentwickelung, bezw. Schaumbildung;

b) beginnende Schaumbildung;

c) in beiden Kolben keine Spur von Gasentwickelung. Auf der Oberfläche des Kolbeninhaltes schwimmt ein irisierendes Häutchen, welches bei a und b fehlt.

Es unterlag demnach keinem Zweifel, daß das entwickelte Gas bei a und b ein Zersetzungsprodukt des zugesetzten Nitrates bezw. Nitrites war.

Die 4 Kolben blieben nun 10 Tage bei 30° C stehen. Nach dieser Zeit zeigte eine Prüfung, daß in a sämtlicher Salpeter verschwunden war, während die Zersetzung des Nitrites bei b nur teilweise erfolgt war, was nach früher Gesagtem nicht überraschen konnte.

Die Hautbildung auf den beiden Kolben c war inzwischen noch ausgeprägter geworden. Um zu untersuchen, ob diese zwei Kolben nachträglich in Gärung zu versetzen seien, oder ob sich während der 10 Tage das jedenfalls aus zahlreichen Elementen bestehende Bakteriengemisch in einem der Gärung ungünstigen Sinne geändert hatte, wurde jedem der Kolben 0,32 g $NaNO_3$ zugegeben. Nach 24 Stunden war schon stürmische Gasentwickelung zu beobachten, die bezüglich ihres Ursprunges den aus obigen Versuchen gezogenen Schluß bestätigte. Es war daher gestattet, bei der Prüfung der einzelnen isolierten Arten die Schaumbildung in salpeterhaltigen Medien als Indikator für eingetretene Nitratzersetzung zu verwenden.

Bedeutsam war für unsere Isolierungszwecke die Frage, ob die Salpetervergärung durch Erhitzen, speziell durch Erhitzen auf 100° C unterdrückt werde. War dieses nicht der Fall, d. h. gehörten die von uns gesuchten Gärungserreger zu den sporenbildenden oder sonst sehr widerstandsfähigen Arten, so war die Isolierung sehr erleichtert, indem dann eine ganze Reihe vielleicht an Zahl vorherrschender Arten durch Kochen des Gemisches beseitigt werden konnten.

Schon im Anfange unserer Arbeiten war ein Fall vorgekommen, wo durch die chemische Analyse in dem Inhalte eines Kolbens, der die Bezeichnung „1 Std. gekocht" trug, nur noch die Hälfte des ursprünglichen N nachgewiesen werden konnte. Wir führten damals dieses Ergebnis auf einen Irrtum in der Bezeichnung oder in der Nitratzugabe zurück. Später wurden diesbezügliche Versuche wie folgt angestellt:

In 9 Erlenmeyer-Kolben wurden 5 g frischer Faeces hineingewogen, dazu 100 ccm Leitungswasser, welche 0,32 g $NaNO_3$ enthielten, gegeben.

Von diesen Kolben wurden

3 nicht sterilisiert und direkt bei 30° C hingestellt	Ia, Ib, Ic
3 einmal $^1/_4$ Stunde strömendem Dampfe von 100° C ausgesetzt und dann bei 30° C aufbewahrt	IIa, IIb, IIc
3 an drei aufeinander folgenden Tagen je $^1/_4$ Stunde bei 100° C gehalten und dann bei 30° C hingestellt	IIIa, IIIb, IIIc.

Nach 24 Stunden war noch an keinem der Kolben eine Veränderung wahrzunehmen. Nach 2×24 Stunden war in den sämtlichen 6 ersten Kolben Gasentwickelung eingetreten, und zwar bei den Kolben I meist in stärkerem Maße als bei den Kolben II. Die Kolben III

zeigten keine Veränderung; sie war durch das dreimalige unterbrochene Kochen sterilisiert. Das Ergebnis schien somit ein günstiges zu sein und sollte nun noch entschieden werden, wie weit das einmalige Kochen getrieben werden könne, ohne das Eintreten einer Gärung zu verhindern.

5 Parallelkolben wurden in bekannter Weise mit dem Gemische beschickt und sämtliche gleichzeitig in den Dampftopf gebracht. Nach $^1/_2$-stündiger Einwirkung des strömenden Dampfes von 100° C wurde der erste Kolben herausgenommen, nach $^3/_4$ Stunden der zweite, nach 1 Stunde der dritte, nach $1\,^1/_4$ Stunden der vierte und nach $1\,^1/_2$ Stunden der fünfte.

Nach 3 Tagen war Schaumbildung eingetreten in den Kolben, welche $\frac{1}{2}$, $\frac{3}{4}$ und 1 Stunde gekocht worden waren. In diesen 3 Kolben zeigte sich eine oberflächliche, zusammenhängende Haut, welche zwar beim bloßen Hinsehen nicht sichtbar war, jedoch beim Neigen des Kolbens sich durch glänzende Falten bemerkbar machte. Die zwei übrigen Kolben, die $\frac{5}{4}$ und $1\frac{1}{2}$ Std. gekocht waren, zeigten keine Hautbildung. Nebenbei gesagt, war der Inhalt derselben nicht steril trotz der langdauernden Erhitzung. Im „hängenden Tropfen“ zeigten sich lebhaft bewegliche Stäbchen von mittleren Dimensionen.

Die weniger lang erhitzten Kolben schienen ein geeignetes Ausgangsmaterial für Isolierungsversuche zu sein. Nun stellte sich aber heraus, daß der Gärungsprozeß, wenn er überhaupt zu Ende geführt wurde, bei weitem nicht den energischen Charakter zeigte, wie bei gar nicht erhitzten Kulturen. Der Grund konnte kaum in einer Abschwächung der Gärungserreger durch die Wärmeerwirkung liegen; vielmehr glaubten wir annehmen zu müssen, daß eine Reihe von Arten, die auf den Reduktionsprozeß begünstigend gewirkt haben (vielleicht durch O-Absorption in der Flüssigkeit), unterdrückt worden sind oder daß wir es mit mehreren gärungserregenden Arten zu thun haben, von denen durch das Erhitzen die wirksamsten getötet worden sind. Die letztere Annahme schien uns den wirklichen Verhältnissen am nächsten zu liegen, und so kamen wir denn nach einer Reihe von mit erhitzten Kulturen vorgenommenen, resultatlos verlaufenen Versuchen auf die Verarbeitung des gärenden, nicht erhitzten Gemisches zurück, da es uns vor allem daran lag, das wirksamste der eventuell vorhandenen, „organisierten Fermente“, d. h. den ursächlichen Erreger des typischen Gärungsvorganges in Reinzucht zu erhalten.

Daß in jenen Kulturen, welche trotz längeren Kochens Schaumbildung zeigen, die letztere im Zusammenhange steht mit der Zerstörung eines Teils des Salpeters und entsprechendem Verluste, haben wir bereits angeführt und belegen wir noch durch folgende Beispiele:

Von 6 Kolben mit dem bekannten Gemische wurden 2 nicht erhitzt, 2 andere $\frac{1}{4}$ Std. gekocht und die 2 letzten $\frac{1}{2}$ Std. gekocht. Die Kolben wurden nachher in den Thermostaten von 30° C gestellt, 3 Wochen dort gelassen und sodann der Salpeter-N durch chemische Analyse bestimmt. Unmittelbar nach Beschickung der Kolben betrug derselbe 0,052 g entsprechend einem Salpetergehalte von 0,32 Proz.

Resultate.

I. Nicht erhitzte Kolben.

	a.	b.
Ammoniak und Salpeterstickstoff	0,00845	0,00765
Ammoniakstickstoff	0,00715	0,00765
Salpeterstickstoff	0,00130	0,00000

II. $\frac{1}{4}$ Std. gekochte Kolben.

	a.	b.
Ammoniak- und Salpeterstickstoff	0,04065	0,03990
Ammoniakstickstoff	0,01995	0,01780
Salpeterstickstoff	0,02070	0,02210

III. $\frac{1}{2}$ Std. gekochte Kolben.

	a.	b.
Ammoniak- und Salpeterstickstoff	0,03835	0,03680
Ammoniakstickstoff	0,01225	0,01075
Salpeterstickstoff	0,02610	0,02605

Es ist somit nach der angegebenen Zeit bei den nicht erhitzten Kolben sämtlicher Salpeter-N verschwunden, bei den $\frac{1}{4}$ Std. gekochten sind von 52 mg noch ca. 21 und bei den $\frac{1}{2}$ Std. gekochten noch ca. 26 mg desselben vorhanden. Wäre mit der Untersuchung länger gewartet worden, so würden die Zahlen für II. und III. wahrscheinlich noch niedriger ausgefallen sein. (Fortsetzung folgt.)

Ueber Nachweis und Verbreitung der Glukase, das Enzym der Maltose.

Von

Dr. M. W. Beyerinck.

Mit 1 Figur.

(Fortsetzung.)

Nach Wysman's Auffassung besteht die Gerstenmalzamylase aus zwei Enzymen, Maltase, welche aus Stärke Maltose und Erythrodextrin[1]) erzeugt, und Dextrinase, welche aus Stärkegranulose nur Maltodextrin produzieren sollte. Nun finde ich, daß Wysman's Ansicht bezüglich der Maltase ohne Bedenken richtig ist, allein, daß die Dextrinase, welche er durch Erhitzen von Malzamylase während 10 Minuten auf 78° C erhielt, ein Kunstprodukt ist, welches in dem lebenden Malze nicht vorkommt. Die Sache verhält sich wie folgt. Wysman glaubte gefunden zu haben, daß im keimenden Malze aus dem Scutellum des Keimlings Dextrinase und Maltase in das Endosperm hinein diffundieren. Das ist aber nicht richtig, aus dem Scutellum strömt (abgesehen von einer Spur Glukase), eben wie aus den Keimlingen

1) Wysman's „Erythrogranulose" ist identisch mit Erythrodextrin.

anderer Mono- und Dikotylen mit mehligem Endosperm, Granulase, d. h. ein Körper, welcher aus Granulose neben Achroodextrin auch Maltose erzeugt. Wird nun das Gemisch von Maltase und Granulase, wie es sich im Malz vorfindet, oberhalb 70° C erhitzt, so stirbt die Maltase ganz ab, da dieser Körper schon bei 55° C durch die Temperatur geschädigt wird, und ferner unterliegt die Granulase einer chemischen Umwandlung, welche darin besteht, daß dessen Vermögen, aus Granulose Maltose zu bilden, stark beeinträchtigt wird, während die Eigenschaft der Dextrinproduktion nicht verändert wird. Es ist nun allerdings bemerkenswert, daß man aus anderen Amylasearten, wie Ptyalin, Maismalzdiastase, Buchweizendiastase etc. durch Erhitzen nur eine viel weniger ausgesprochene „Dextrinase" erhalten kann, d. h. darin durch Erhitzen das Vermögen der Maltoseerzeugung viel weniger vollkommen vernichtet, das beweist aber nur, daß die Gerstenmalzgranulase chemisch verschieden ist von der Maismalzgranulase etc., beweist jedoch nichts für deren Zusammenstellung als Gemisch von Maltase und Dextrinase.

Mit Wysman's Entdeckung der Maltase als ein gut zu charakterisierendes Enzym des Gerstenmalzes, neben der Granulase desselben, war unsere Kenntnis des Gehaltes an Amylasen im Getreide im allgemeinen jedoch noch nicht zum Abschlusse gebracht. Denn erstens fand ich, wie eben gesagt, daß die Granulase des Maismalzes verschieden ist von der Granulase (und natürlich auch von der Maltase) des Gerstenmalzes, des Weizens und des Roggens, und zweitens zeigte Géduld, nach den vorläufigen Angaben Cuisinier's, wie wir weiter sehen werden, daß sich im ungekeimten Mais ein besonderes Enzym vorfindet, die Glukase, deren Haupteigenschaft ist, die Maltose in Glukose zu verwandeln.

Die Hypothese, welche sich bei Verflüssigungsversuchen von Stärkekleister mit Malz unwillkürlich aufdrängt, nämlich daß die Ueberführung des unlöslichen Kleisters in lösliche Granulose auf ein besonderes, nur verflüssigend wirkendes und lösliche Stärke erzeugendes Enzym beruhen könne, hat sich bei genauer Prüfung nicht als berechtigt ergeben, denn es läßt sich erweisen, daß diese Verflüssigung eine Funktion der Granulase ist, und in sehr geringem Grade auch der Maltase und Glukase zukommt [2]). Es dürfte deshalb erscheinen, daß andere stärkezerlegende Enzyme, wie die hier angeführten, im Getreide sowie bei den Gramineen überhaupt nicht vorkommen. Sicher ist dieses allerdings nicht, denn das Verhalten des Hafers deutet durch eigentümliche Erscheinungen auf ein besonderes, der Granulase der Gerste zwar nahestehendes, davon jedoch vielfach abweichendes Enzym. Uebrigens ist es auch noch zweifel-

1) Nach der hier befolgten Nomenklatur ist also Gerstenmalzdiastase = Maltase + Granulase, Maismalzdiastase = Glukase + Granulase, Buchweizendiastase ebenso = Glukase + Granulase. Hierbei sind aber die Glukasen unter sich ebenso wenig völlig identisch wie die Granulasen.

2) Gekochter Stärkekleister ist durchaus keine Lösung, sondern besteht nur aus den stark gequollenen und hyalin gewordenen, jedoch leicht sichtbaren Stärkekörnern, was man direkt bemerkt, wenn man eine Spur Kartoffelstärke in einem Reagentienröhrchen in viel Wasser aufkocht. Durch Jod wird die Erscheinung dann noch deutlicher.

haft, ob die Glukase als ein chemischer Körper aufgefaßt werden muß, wahrscheinlich existieren davon mehrere Modifikationen, welche selbst in einem und demselben Korne, wie Mais, Sorgho oder Buchweizen vorkommen dürften. Sehen wir vorläufig aber von diesen kleineren Verschiedenheiten ab und versuchen wir die vorgeführten drei Hauptarten der natürlichen Amylasen übersichtlich zusammenzustellen.

Es ergiebt sich, daß eine solche Zusammenstellung zu erhalten ist, wenn man die Erzeugungsprodukte, welche jede Amylaseart aus verkleisterter Stärkegranulose sowie aus den Abbauprodukten der letzteren erzeugt, dabei als Basis der Einteilung annimmt. Diese Produkte sind vier in Zahl, nämlich Erythrodextrin, Maltodextrin oder Isomaltose, Maltose und Glukose.

Da hierbei zunächst keine Rücksicht genommen wird auf die übrigen sich nicht mit Jod färbenden Amylasedextrinen, welche mit dem Maltodextrin zur Gruppe der Achroodextrinen gebracht werden können, ist es notwendig, zu erörtern, welche Stellung ich bezüglich der Dextrinfrage überhaupt einzunehmen wünsche. Nach zahlreichen Versuchen habe ich gefunden, daß die Erscheinungen der Dextrinbildung aus verkleisterter Stärke durch Amylase [1]) sich am besten folgenderweise zum Ausdruck bringen lassen.

Es giebt drei Dextringattungen, nämlich das Erythrodextrin, das Maltodextrin oder die Isomaltose und das Leukodextrin. Ersteres färbt sich mit Jod violett-rot, die beiden letzteren bleiben damit farblos und können darum Achroodextrine genannt werden. Maltodextrin oder Isomaltose ist ein einheitlicher Körper, welcher leicht durch gewisse Amylasearten in Maltose übergeführt werden kann, Dasselbe gilt von dem Erythrodextrin, welches dabei aber zuvor in Achroodextrin umgewandelt wird.

Leukodextrin ist dagegen ein Kollektivname von folgender Bedeutung. Wenn man auf verkleisterte Stärke Malzamylase während kurzer Zeit einwirken läßt, so findet zunächst eine vollständige Verflüssigung statt und die Lösung wird mit Jod tiefblau. Läßt man nun die Amylase so lange einwirken, bis die Lösung sich mit Jod nicht mehr färbt, und präzipitiert dann mit nicht allzustarkem Alkohol, z. B. Alkohol von 60° in Uebermaß, so ist es möglich, ein Gemisch von Körpern von dem gelöst bleibenden Maltodextrin und der Maltose zu trennen, ein Gemisch, welches ich Leukodextrin nenne und welches sofort als schneeflockiges Präzipitat ausfällt. Erst bei viel höherer Konzentration des Alkohols erhält man das Maltodextrin als syrupartige Tropfen, welche sich an die Glaswand absetzen [2]).

Dieses Leukodextrin ist jedoch für die Einwirkung der Amylase, wenn diese nur lange genug fortdauert, zugänglich, und kann dabei schließlich auch vollständig in Maltose übergehen. Nach der Diffusionsgeschwindigkeit des Leukodextrins in Gelatineplatten zu urteilen, finden sich darin Körper von sehr verschiedener Molekulargröße. Diejenigen mit den größten Molekülen diffundieren überhaupt

---

1) Ueber die Säuredextrine kann ich kein bestimmtes Urteil abgeben.

2) Mit stärkerem Alkohol präcipitiert schließlich auch Maltose.

nicht, was ebenfalls für Stärkegranulose zutrifft; die am weitesten diffundierten stimmen in Bezug auf den zurückgelegten Weg mit dem Erythrodextrin nahezu überein, und dürften auch nach der Molekulargröße davon wenig verschieden sein.

Die Leukodextrine entstehen durch Amylolyse sowohl aus Stärkekleister wie aus löslicher Stärke, und ihre vollständige Entfernung aus Granulose, Erythrodextrin und Maltodextrin scheint bisher noch nicht gelungen.

Mit Lintner's neuester Untersuchung, worin die Abbauprodukte der Stärke als Osazone bestimmt sind, ist unsere Auffassung ziemlich gut in Einklang[1]). Lintner hat jedoch gar keine Rechnung gehalten mit dem am meisten prinzipiellen Fortschritte unserer Kenntnis der diastatischen Prozesse, nämlich mit Wysman's Entdeckung der Maltase.

Es darf noch bemerkt werden, daß unsere Betrachtung über die Leukodextrine mit der ursprünglichen Ansicht von Carl Nägeli, nach welcher das Stärkekorn aus einem Gemische von Stärkegranulose und Stärkecellulose aufgebaut ist[2]), gut übereinstimmt. Es können nämlich das Erythrodextrin, das Maltodextrin und die Maltose ungezwungen auf Nägeli's Stärkegranulose, die Leukodextrine dagegen auf seine Stärkecellulose zurückgeführt werden. Nach dieser Vorstellung muß in einer Stärkelösung, sofort nach der Verflüssigung durch Malz, ein aus der Stärkecellulose hervorgehender Stoff gegenwärtig sein, welcher durch Jod nicht gefärbt wird und Diastase gegenüber resistenter ist, wie die Stärkegranulose, was gut stimmt mit den Erfahrungen der Praxis. Daß gewisse chemische Eingriffe imstande sind, die ursprüngliche Stärkecellulose mehr oder weniger vollständig in Stärkegranulose umzuwandeln, scheint mir mit der angeführten Betrachtung nicht im Streite.

Um mit meinen Versuchen gut in Uebereinstimmung zu bleiben, will ich von dieser Ansicht insoweit Gebrauch machen, daß ich unter Stärkegranulose nur denjenigen Teil einer Stärkelösung verstehe, welcher durch Malzdiastase in kurzer Zeit glatt in Erythrodextrin, Maltodextrin und Maltose übergeführt wird. Die Leukodextrinen sind für die Charakteristik der Amylasen vorläufig ungeeignet, weshalb ich dabei nicht länger verweilen will.

Stellen wir nun die Amylasegattungen nach dem Gesichtspunkte der dadurch aus Stärkegranulose erzeugten Produkte tabellarisch zusammen, so erhalten wir folgende Uebersicht:

A.

Amylasegattungen	Umwandlungsprodukte aus Stärkegranulose			
	Erythrodextrin	Maltodextrin	Maltose	Glukose
I. Glukase	—	$+^v$	$+^v$	+
II. Maltase	+	—	+	—
III. Granulase	—	$+^v$	+	—

1) Berichte der Deutschen chem. Gesellsch. Bd. XXVI. 1893. p. 2533.
2) Die Stärkekörner. p. 183 ff. Zürich 1858.

In Bezug auf den in dieser und den folgenden Tabellen gebrauchten Namen Granulase will ich noch Folgendes bemerken: Wie schon im Vorhergehenden angegeben, verstehe ich unter Granulase eine Reihe von Amylasearten, welche zur Zeit nur schwierig von einander zu unterscheiden sind, obschon dieselben durchaus nicht identisch sind. Die Hauptarten davon, welche ich untersucht habe, sind:

a) Ptyalin und Pankreasgranulase, welche unter sich wohl identisch sind und als „Alkaligranulasen" den folgenden als „Säuregranulasen" zu bezeichnenden Arten gegenübergestellt werden können [1]).

b) Die Gersten-, Weizen- und Roggenkeimlinggranulase, welche sich auch in der Eiweißschicht des Endosperms dieser Körner vorfindet (wobei dann die Malzdiastase = Maltase + Malzgranulase ist.)

c) Buchweizengranulase, wohl identisch mit der Dikotylengranulase im allgemeinen, wie in keimenden Kartoffeln, in den Samenlappen der meisten stärkeführenden Dikotylenkeimlinge, der Sileneenfrüchte u. s. w.

d) Granulobactergranulase (bei Granulobacter butylicum und G. saccharobutylicum).

e) Maismalzgranulase.

Die Maltase in dem hier gebrauchten Sinne findet sich, außer im Endosperm von Weizen, Gerste und Roggen und vielen anderen Gramineen, neben Granulase auch in den verschiedensten Teilen von Vicia Faba und Pisum sativum, in den Fruchtknotenwandungen von Phaseolus und Cytisus, in den Blattstielen von Robinia, in den Knollen von Sagittaria sagittaefolia und anderswo.

Aber kehren wir nach dieser Detaillierung zu unserer Haupteinteilung der Amylasen zurück.

Stellen wir auf eine ähnliche Weise, wie in Tabelle I die Umwandlungsprodukte aus Granulose dargestellt worden sind, die weiteren Abbaustufen jener Produkte zusammen, nämlich resp. von Erythrodextrin (Tab. B), von Maltodextrin (Tab. C) und von Maltose (Tab. D), so bekommen wir die nachfolgenden Daten:

B.

Amylase-gattungen	Umwandlungsprodukte aus Erythrodextrin		
	Maltodextrin	Maltose	Glukose
I. Glukase	$+^{v}$	$+^{v}$	+
II. Maltase	—	+	—
III. Granulase	$+^{v}$	+	—

C. D.

Amylase-gattungen	Umwandlungsprodukte aus Maltodextrin		Umwandlungs-produkte aus Maltose
	Maltose	Glukose	Glukose
I. Glukase	$+^{v}$	+	+
II. Maltase	+	—	—
III. Granulase	+	—	—

1) Speichel- und Pankreasdiastase enthalten neben Granulase Spuren von Glukase.

In allen diesen Tabellen bedeutet das Zeichen +, daß der betreffende Körper wohl entsteht, das Zeichen —, daß dieses nicht der Fall ist. Der Buchstabe *v*, daß der betreffende Körper vorübergehend entsteht, um dann weiter zersetzt zu werden. Wir sehen also, daß Glukase aus Stärkekleister vorübergehend Maltodextrin, bleibend Glukose, aber kein Erythrodextrin und keine Maltose erzeugt (Tab. A); ferner daß Glukase aus Erythrodextrin vorübergehend Maltodextrin und Maltose, bleibend Glukose erzeugt (Tab. B); dann daß Glukase aus Maltodextrin vorübergehend Maltose und daraus Glukose erzeugt (Tab. C), und endlich, daß Glukase Maltose in Glukose verwandelt (Tab. D). Für die anderen Enzyme lassen sich die Umwandlungsprodukte auf dieselbe Weise aus den Tabellen ablesen.

Um alle Zweideutigkeit zu entfernen, muß ich nun noch einmal auf die Leukodextrine zurückkommen. Wie diese sich in Bezug auf die hier genannten Enzyme verhalten, ist vorläufig unbekannt. Wichtig ist es aber, zu bemerken, daß auch diese Körper unter Umständen völlig in Zucker übergehen können. Es ist sicher, daß dieses bei sehr schwach alkalischer oder neutraler Reaktion durch Ptyalin oder Pankreasdiastase geschehen kann, wobei hauptsächlich Maltose, nur spurenweise Glukose entsteht, und ferner, daß dieselben bei neutraler oder sehr schwach saurer Reaktion durch Glukase schließlich in Glukose umgewandelt werden. Vieles deutet auch darauf hin, daß sie auch von Maltase und Granulase angegriffen werden, wodurch sie sich als noch labilere Körper ergeben, wie z. B. das Erythrodextrin, welches unter den gewöhnlichen Versuchsbedingungen nicht von Maltase angegriffen wird [1]). Das Eigentümliche bei den Umwandlungen des Leukodextrins scheint besonders in der Langsamkeit zu bestehen, womit dieser Prozeß verläuft, verglichen mit der schnellen Umwandlung, welche die Granulose durch die Amylasen erfährt. Ich brauche wohl nicht zu sagen, daß in den Leukodextrinen die Hauptursachen gesucht werden müssen bezüglich der Unsicherheit, welche so vielen Untersuchungen über die Amylolyse anklebt, und daß es eine wichtige Aufgabe für die physiologische Chemie ist, eben auf diese Körper neues Licht zu werfen. Ob auch sehr langsame Umwandlungen in anderem Sinne, wie in den Tabellen verzeichnet, durch die dort angeführten Amylasen stattfinden, ohne daß die Leukodextrinen dabei im Spiele sind, weiß ich nicht sicher, doch halte ich es für wahrscheinlich. Der für diese verschiedenen Prozesse gebrauchte Zeitaufwand ist aber sicher so gänzlich verschieden von den für die Hauptumsetzungen benutzten, daß die in den Tabellen gegebenen Zeichen ihre volle Berechtigung haben und jedenfalls für die meisten Laboratoriumversuche das Schema der Umwandlung gut angeben. Ich habe darum auch auf diesen Seiten, wo ich über die Glukase spreche, von diesen sozusagen säkularen Vorgängen abgesehen. Ich bin mir wohl bewußt, daß eine der merkwürdigsten Seiten der Enzymwirkungen dadurch außer Betrachtung bleibt, doch erscheint eine solche Behandlungsweise auf diesem noch so wenig aufgeklärten Arbeitsfelde durchaus notwendig.

---

1) Unter noch nicht näher erforschten Umständen vermag Maltase Erythrodextrin weiter abzubauen.

Am Schlusse dieses Kapitels muß ich noch besonders betonen, obschon das vorgehend schon erörtert wurde, daß die Amylasearten an ihren natürlichen Entstehungsorten gewöhnlich nicht rein auftreten, sondern gemischt mit anderen Amylasearten, und daß die Trennung derselben durch die gewöhnlichen chemischen Hilfsmittel nur unvollkommen möglich ist. So findet sich im Speichel neben dem Ptyalin ein wenig Glukase; — dasselbe gilt bezüglich der Pankreasflüssigkeit; — im Endosperm der ungekeimten Gerste findet sich viel Maltase mit ganz geringen Spuren Glukase und etwas Granulase; — im Gerstenmalze ein quantitativ veränderliches Gemisch von Granulase, Maltase und Glukase, letzteren Körper jedoch nur in äußerst geringer Menge; — in den Vegetationsorganen von Vicia Faba und anderen Papilionaceen, ein Gemisch von Granulase und Maltase; — ebenso in den Knollen von Sagittaria sagittaefolia; — in den keimenden Samen von Mirabilis jalapa, von Buchweizen, sowie im Maismalze ein Gemisch von Glukase und Granulase. Es ist deutlich, daß diese Mischungsverhältnisse die amylolytischen Prozesse außerordentlich verwickeln und die Beurteilung der sehr langsamen Umsetzungen ganz besonders erschweren. Die Diffusionsmethode ist gut geeignet, viele der subtilsten Fragen in dieser Beziehung einfach und klar zu beantworten oder, in anderen Fällen, zu einer nützlichen Hypothese oder zu richtiger Fragstellung Veranlassung zu geben.

Ich wünsche nun diese allgemeine Besprechung abzubrechen, nicht aus Mangel an Untersuchungsergebnissen, sondern weil für unseren eigentlichen Gegenstand darüber genug gesagt ward, und ich will nun zur Darstellung der bei der Glukase erhaltenen Resultate übergehen. (Fortsetzung folgt.)

Bakteriologische Untersuchungen über den Reifungsprozess des Emmenthalerkäses.

Von

Dr. Ed. von Freudenreich,

Vorsteher des bakt. Laboratoriums der Molkereischule Rütti (Bern).

(Fortsetzung.)

Versuche mit Bacillus 6 allein.

Käse No. 1. 13. Januar 1894. Zusatz von 100 ccm Bouillonkultur von Bac. 6. Bei ca. 25° aufbewahrt.

1) Analyse vom 1. Februar 1894:

a) Kontrollkäse. Keine Spur von Reifung. Keine Milchsäurefermente. Zahlreiche Kolonieen von Bacillus 1, jedenfalls eine zufällige Infektion.

b) Geimpfter Käse. Ein Spur gereifter. Zahlreiche Kolonieen von Bacillus 6 und Milchsäurefermente.

2) Analyse vom 21. Februar 1894:

a) Kontrollkäse. Reifung kaum bemerkbar. Bacillus 1 verschwunden. Keine Milchsäurefermente in der Gelatine. Auf der ersten Agarplatte sind dagegen solche vorhanden.

b) Geimpfter Käse. Einige wenige Kolonieen von Bacillus 6. Keine Milchsäurefermente. Reifung ebensowenig ausgesprochen als beim Kontrollkäse.

3) Analyse vom 8. März 1894:

a) Kontrollkäse. Eine gewisse Reifung vielleicht bemerkbar, aber sehr gering. Steril.

b) Geimpfter Käse. Kein Unterschied in der Reifung mit dem Kontrollkäse. Vereinzelte Kolonieen von Bacillus 6. Keine Milchsäurefermente.

Käse No. 2. 19. Januar 1894. Zusatz von 100 ccm Bouillonkultur von Bacillus 6. Aufbewahrung bei ca. 25 °.

Analyse vom 13. Februar 1894:

a) Kontrollkäse. Reifung bemerkbar. Sehr viele Milchsäurefermente. Auf einer Agarplatte (erste Platte) ca. 10 Kolonieen eines Kartoffelbacillus.

a) Geimpfter Käse. Reifung wenig bemerkbar. Zahlreiche Kolonieen (Agar) von Bacillus 6. Sehr zahlreiche Milchsäurefermente.

Analyse vom 3. März 1894:

a) Kontrollkäse. Reifung jetzt wenig deutlich. Einige Kolonieen von Milchsäurefermenten.

b) Geimpfter Käse. Reifung bemerkbar. Im ganzen nur noch drei Kolonieen von Bacillus 6. Sonst nichts.

Analyse vom 24. März 1894:

a) Kontrollkäse. Sehr schwache Reifung. Milchsäurefermente vorhanden, aber nicht zahlreich.

b) Geimpfter Käse. Reifung bemerkbar. Milchsäurefermente und einige Kolonieen von Bacillus 6.

Käse No. 3. 20. Januar 1894. Gewöhnliche, nicht pasteurisierte Milch. Zusatz von 100 ccm zweitägiger Bouillonkultur und 200 ccm eintägiger Milchkultur von Bacillus 6. Bei 25 ° gehalten.

Analyse vom 29. Januar 1894:

a) Kontrollkäse. Keine verflüssigende Bacillen. Sehr zahlreiche Milchsäurefermente. Auch viele Kolonieen des verflüssigenden Micrococcus. Noch keine Reifung.

b) Geimpfter Käse. Noch keine Reifung. Auf den Platten bereits keine Kolonieen von Bacillus 6 mehr. Verflüssigender Micrococcus und Milchsäurefermente in großer Anzahl. Bei direkter Impfung der Emulsion in Bouillon Bacillus 6 nachweisbar.

Analyse vom 7. Februar 1894:

a) Kontrollkäse. Die Reifung geht normal vor sich. Milchsäurefermente.

b) Geimpfter Käse. Gleiche Reifung wie bei dem Kontrollkäse. Auf den Agarplatten Bacillus 6 noch nachweisbar. Viele Milchsäurefermente.

Analyse vom 1. März 1894:

a) Kontrollkäse. Sehr vorgeschrittene Reifung. Keine verflüssigende Bacillen. Zahlreiche Milchsäurefermente.
b) Geimpfter Käse. Reifung ganz gleich wie beim Kontrollkäse. Noch viele Kolonieen von Bacillus 6 (9 auf Gelatineplatte I) nebst vielen Milchsäurefermenten.

Aus diesem letzteren Versuche ersieht man zunächst, daß in aus gewöhnlicher Milch hergestellten Käsen der Zusatz großer Mengen von Bacillus 6 gar keine Beschleunigung der Reifung bewirkte. Die Käse vom 13. Januar reiften nicht, auch der mit Bacillus 6 geimpfte nicht. Zu bemerken ist, daß in keinem die Milchsäurefermente zahlreich waren. Von den zwei Käsen des 19. Januar dagegen war der geimpfte gereifter. Eine Vermehrung von Bacillus 6 ist aber jedenfalls nicht eingetreten. Man hat vielmehr den Eindruck, daß die auskeimenden Kolonieen von Bacillus 6 nur den in den Bouillonkulturen enthalten gewesenen Sporen ihren Ursprung verdankten, denn im Verhältnis zu den eingeimpften Bacillen war ihre Anzahl auf den Platten verschwindend klein. Zwei dieser Versuche sprechen also jedenfalls gegen die Annahme, daß Bacillus 6 eine Hauptrolle bei der Reifung spiele; einer freilich ließe sich zu gunsten dieser Annahme anführen.

Versuche mit Bacillus 6 vereint mit Bacillus α.

Diese Versuche sollten feststellen, ob bei Zusatz großer Mengen eines Milchsäurefermentes bessere Resultate erzielt würden.

Käse No. 1. 8. Dezember 1893. Zusatz von 100 ccm Milchkultur von Bacillus 6 und 100 ccm Bouillonkultur von Bacillus α. Aufbewahrung bei ca. 25 °.

Analyse vom 8. Januar 1894:
a) Kontrollkäse. Keine Reifung. Wenig Milchsäurefermente. Keine verflüssigende Kolonieen.
b) Geimpfter Käse. Sehr viele Kolonieen der beiden eingeimpften Bakterien. Reifung bemerkbar.

Analyse vom 27. Januar 1894:
a) Kontrollkäse. Sehr wenig gereift. Milchsäurefermente (ovaler Coccus) aber nicht zahlreich.
b) Geimpfter Käse. Scheinbar etwas mehr gereift, aber weniger deutlich als am 8. Januar. Beide eingeimpfte Bakterien noch sehr zahlreich.

Käse No. 2. 25. Januar 1894. Zusatz von 200 ccm Bouillonkultur und 100 ccm Milchkultur von Bacillus 6 nebst 100 ccm Bouillonkultur von Bacillus α. Aufbewahrung bei ca. 25 °.

Analyse vom 15. Februar 1894:
a) Kontrollkäse. Milchsäurefermente und auch ziemlich viele Kolonieen verflüssigender Bacillen. Keine Reifung; bitterer Geschmack.
b) Geimpfter Käse. Die Platten enthalten die beiden geimpften Bakterien. Reifung ausgesprochener als im Kontrollkäse.

Analyse vom 24. Februar 1894:
a) Kontrollkäse. Reifung sehr wenig bemerkbar. Nur ein ovaler Coccus.

b) Geimpfter Käse. Reifung scheint ausgesprochener zu sein als bei dem Kontrollkäse. Die beiden eingeimpften Bakterien geben zahlreiche Kolonieen.

Analyse vom 20. März 1894:

a) Kontrollkäse. Reifung zweifelhaft. Geschmack bitter. Nur ein ovaler Coccus reichlich vorhanden.

b) Geimpfter Käse. Reifung deutlich. Beide eingeimpften Bakterien noch vorhanden.

Käse No. 3. 26. Januar 1894. 200 ccm Milchkultur und 100 ccm Bouillonkultur von Bacillus 6 nebst 100 ccm Bouillonkultur von Bacillus *α*.

Analyse vom 15. Februar 1894:

a) Kontrollkäse. Ziemlich viele ovale Kokken. Auch Kolonieen eines Bacillus 6 ähnlichen Mikroorganismus. Fast keine Reifung.

b) Geimpfter Käse. Bacillus 6 und *α* beide vorhanden. Reifung scheinbar deutlicher als im Kontrollkäse.

Analyse vom 24. Februar 1894:

a) Kontrollkäse. Keine Reifung. Immer noch der gleiche ovale Coccus.

b) Geimpfter Käse. Reifung kaum merkbarer als im Kontrollkäse. Beide eingeimpften Bakterien vorhanden.

Analyse vom 21. März 1894:

a) Kontrollkäse. Ein gewisser Grad von Reifung vorhanden. Immer noch der ovale Coccus.

b) Geimpfter Käse. Die Reifung scheint deutlicher ausgesprochen zu sein als bei dem Kontrollkäse. Bacillus 6 noch vorhanden. Bacillus *α* verschwunden.

In diesen drei Versuchen war der geimpfte Käse einmal deutlich gereift, gegenüber dem Kontrollkäse. In den anderen Fällen schien auch ein Unterschied zu gunsten der geimpften Käse bemerkbar zu sein, jedoch nicht so deutlich als bei Käse No. 2. Es ist zu bemerken, daß große Dosen von Bacillus 6 (300 ccm) und zum Teil Milchkulturen zugesetzt wurden, welch letztere bereits Zersetzungsprodukte enthielten, die bekanntlich verwandt sind mit den Reifungsprodukten des Käses. Die scheinbar ausgesprochenere Reifung mag zum Teil davon herrühren.

Versuche mit Bacillus 1.

Dieser Bacillus, der mit Bacillus megaterium identisch zu sein scheint, wurde wie erwähnt, 6 mal in reifenden Käsen gefunden. Mit demselben machte ich vier Versuche.

Käse No. 1. 16. Januar 1893. Zusatz von 200 ccm Bouillonkultur von Bacillus 1. Vier Wochen lang im Käsekeller der Rütti aufbewahrt, von da an im Laboratorium bei Zimmertemperatur.

Analyse vom 16. Februar 1893:

a) Kontrollkäse. Keine Reifung. Steril. Geschmack nicht schlecht.

b) Geimpfter Käse. Viele Kolonieen von Bacillus 1, dazu Milchsäurefermente. Keine Reifung. Geschmack nicht sehr gut.

Analyse vom 4. März 1893:

a) Kontrollkäse. Keine eigentliche Reifung, jedoch nicht geschmacklos.
b) Geimpfter Käse. In der Reifung kein Unterschied mit dem Kontrollkäse. Geschmack aber unangenehm.

Käse No. 2. 17. Januar 1893. Zusatz von 130 ccm Kultur von Bacillus 1. Bei Zimmertemperatur im Laboratorium aufbewahrt. Dieser Käse sollte öfters untersucht werden, um festzustellen, ob die eingeimpften Bacillen eine Vermehrung erfahren würden oder nicht. Es wurde daher unterlassen, einen Kontrollkäse herzustellen.

Am 21. Januar 1893: Eine Anzahl Kolonieen von Bacillus 1. Scheint etwas gereift zu schmecken.

Am 24. Januar 1893: Sehr viele Kolonieen von Bacillus 1.
Am 30. Januar 1893: „ „ „ „ „ 1.
Am 2. Februar 1893: „ „ „ „ „ 1, in einem dem Rande entnommenen Stücke. In einem anderen, der Mitte entnommenen Stücke sind sie weniger zahlreich. Auf den Milchzuckergelatineplatten wachsen nur Milchsäurefermente.

Am 9. Februar 1893: Noch ziemlich viel Kolonieen von Bacillus 1. Die Reifung schreitet nicht vor. Geschmack nicht sehr gut.

Am 14. März 1893: Reifung ganz unbedeutend; schlechter Geschmack wie bei dem Käse vom 16. Januar 1893. Kolonieen von Bacillus 1 und Milchsäurefermente.

Käse No. 3. 25. Februar 1893. Zusatz von 140 ccm Milchkultur von Bacillus 1.

Analyse vom 16. März 1893: Kein Unterschied mit dem Kontrollkäse. Auf den 2 gegossenen Platten je eine Kolonie von Bacillus 1. Viele Milchsäurefermente.

Am 21. März normale Reifung bei beiden Käsen, dem geimpften und dem Kontrollkäse. Die Kolonieen von Bacillus 1 sind nicht zahlreicher geworden.

Bei diesen Versuchen mit Bacillus 1 sah man also 2 mal ganz unbedeutende Reifung bei Kontroll- und geimpftem Käse eintreten; bei den geimpften Käsen war sie von schlechtem Geschmack begleitet. Einmal waren beide gleich gut gereift. Daraus läßt sich wohl schließen, daß Bacillus 1 die Reifung nicht begünstigt; er scheint eher dem Käse einen schlechten Geschmack zu verleihen. Letzterer dürfte indessen vielleicht mehr den in den Kulturen enthalten gewesenen Zersetzungsprodukten zuzuschreiben sein, als der Thätigkeit dieser Bakterien im Käse selbst; denn im Laufe des Versuches nahm ihre Zahl eher ab. Die entstandenen Kolonieen verdankten daher wohl auch hier ihren Ursprung den am Leben gebliebenen Sporen. Interessant ist auch der Umstand, daß besonders im Innern die Abnahme ausgesprochener ist, als am Rande. Schon der Umstand, daß diese verflüssigenden Bacillen besonders bei Luftzutritt gedeihen, zeigt, daß sie schwerlich an der Reifung einen hervorragenden Anteil nehmen, da im Innern der Käsemasse für die Aërobiose wenig günstige Bedingungen vorliegen.

Versuche mit Bacillus 2.

Käse No. 1. 17. Januar 1893. Zusatz von 70 ccm Kultur von Bacillus 2. Kein Kontrollkäse. Im Laboratorium aufbewahrt.

Am 24. Januar 1893: Kolonieen von Bacillus 2. Milchsäurefermente.

Am 30. Januar 1893: Kolonieen von Bacillus 1, wohl eine zufällige Infektion.

Am 2. Februar 1893: Nur Milchsäurefermente.

Am 16. Februar 1893: Infektion. Reifung wenig vorgeschritten.

Am 14. März 1893: Schlechter Geschmack.

Käse No. 2. 18. Januar 1893. Zusatz von 120 ccm von Bacillus 2. Bis 16. Februar im Käsekeller aufbewahrt; von da an im Laboratorium.

Analyse vom 16. Februar 1893:

a) Kontrollkäse. Keine Reifung. Milchsäurefermente.

b) Geimpfter Käse. Keine Reifung, aber schlechterer Geschmack als bei dem Kontrollkäse.

Analyse vom 14. März 1893:

a) Kontrollkäse. Keine Aenderung.

b) Geimpfter Käse. Teig weicher, aber keine eigentliche Reifung. Schlechter Geschmack.

Nach diesen 2 Versuchen scheint somit Bacillus 2 den Geschmack des Käses nur zu verschlechtern, ohne Reifung zu produzieren.

Versuche mit Bacillus 4.

Käse No. 1. 20. Januar 1893. Zusatz von 140 ccm Kultur von Bacillus 4.

Analyse vom 16. Februar 1893:

a) Kontrollkäse. Etwas Reifung. Nur Milchsäurefermente.

b) Geimpfter Käse. Auch etwas gereift. Milchsäurefermente. Keine Kolonieen des eingeimpften Bacillus.

Analyse vom 14. März 1893:

a) Kontrollkäse. Ziemlich gereift. Nur Milchsäurefermente.

b) Geimpfter Käse. Nur Milchsäurefermente. Vielleicht etwas gereifter als der Kontrollkäse.

Käse No. 2. 25. Januar 1893. Zusatz von 140 ccm Kultur von Bacillus 4. Bis 16. Februar im Käsekeller der Rütti aufbewahrt. Von da an im Laboratorium.

Analyse vom 14. Februar 1893:

a) Kontrollkäse. Keine Reifung. Platten steril.

b) Geimpfter Käse. Gereifter als der Kontrollkäse, aber keine Kolonieen von Bacillus 4 auf den Platten.

Analyse vom 4. April 1893:

a) Kontrollkäse. Keine Reifung, wenigstens nicht ausgesprochen. Eine Impfung in Bouillon giebt einen Kartoffelbacillus.

b) Geimpfter Käse. Platten (gewöhnliche Gelatine) steril. Die Reifung ist jedoch ausgesprochen. Eine Impfung in Bouillon giebt Milchsäurebacillen.

Käse No. 3. 30. Januar 1893. Zusatz von 100 ccm Kultur von Bacillus 4. Im Laboratorium aufbewahrt. Kein Kontrollkäse.

Am 3. Februar 1893: Fünf Kolonieen von Bacillus 1 und Milchsäurefermente. Auch Kolonieen des verflüssigenden Micrococcus. Die Pasteurisation der Milch scheint unzureichend gewesen zu sein.

Am 9. Februar: Keine Reifung. Einige Kolonieen von Bacillus 1, nebst Milchsäurefermenten.

Am 16. Februar: Noch immer Bacillus 1.

Am 14. März 1893: Nur Milchsäurefermente. Etwas Reifung.

Am 4. April 1893: Bestimmte Reifung.

Käse No. 4. 27. März 1893. Zusatz von 100 ccm Kultur von Bacillus 4. Im Käsekeller der Rütti aufbewahrt.

Am 13. Juni: Ziemliche Reifung, sowohl bei dem Kontrollkäse als bei dem geimpften Käse. Milchsäurefermente in beiden.

Käse No. 5. 10. April 1893. Zusatz von 200 ccm Kultur von Bacillus 4. Im Käsekeller der Rütti aufbewahrt.

Am 13. Juni ist der Kontrollkäse kaum gereift, er enthält viele Milchsäurefermente. Der geimpfte Käse ist vielleicht eine Spur gereifter, der Unterschied ist jedoch nur sehr schwach. Der eingeimpfte Bacillus findet sich nicht mehr vor.

Käse No. 6. 17. April 1893. Zusatz von 200 ccm Kultur von Bacillus 4, wie am 10. April.

Am 13. Juni keine Reifung bei dem Kontrollkäse, während eine solche bei dem geimpften Käse bis zu einem gewissen Grade vorhanden ist.

In diesen 6 Versuchen haben wir also 2mal eine bestimmte Reifung bei dem geimpften Käse; jedoch ist zu bemerken, daß in einem Falle kein Kontrollkäse vorlag (25. und 30. Januar 1893).

Einmal ziemliche Reifung bei dem geimpften Käse und fehlende Reifung bei dem Kontrollkäse (11. April).

Zweimal ziemliche Reifung, sowohl bei dem Kontroll- wie bei dem geimpften Käse. Einmal endlich ganz schwache Reifung bei beiden.

Einen bestimmten Einfluß auf die Reifung scheint somit Bacillus 4 nicht zu besitzen. (Schluß folgt.)

Zusammenfassende Uebersichten.

Ueber die in den Produkten der Zuckerfabrikation auftretenden Bakterien[1].

Sammelreferat

von

A. Stift,

Adjunkt an der chem.-techn. Versuchsstation des Centralvereins für Rübenzuckerindustrie in der österr.-ung. Monarchie,

in Wien.

Die Erzeugung des Zuckers ist ein Industriezweig, dessen sämtliche Produkte vom Anfange bis zum Ende der Fabrikation den

1) Zeitschrift des Vereins für die Rübenzuckerindustrie des Deutschen Reiches. 1874. p. 309.

günstigsten Nährboden für die Thätigkeit der Bakterien abgeben. Es ist nun ganz merkwürdig, daß man der Rolle der Bakterien in der Zuckerfabrikation bis jetzt verhältnismäßig wenig Beachtung geschenkt hat, denn es sind in der Litteratur nur wenige Arbeiten zu finden, die sich mit den Erscheinungen der Bakterienwirkung in der Zuckerfabrikation befassen. Der bis jetzt bekannteste und am eingehendsten bearbeitete Spaltpilz der Zuckerfabrikation ist der Froschlaichpilz — Leuconostoc mesenterioïdes Cienk. —, welcher infolge der Arbeiten Scheibler's über die chemische Natur der gallertartigen Ausscheidung, die bei der Saftgewinnung von Rüben manchmal beobachtet wird, von Jubert[1]) zuerst nachgewiesen und dann von Cienkowski[2]) und von van Tieghem[3]) näher studiert und beschrieben wurde. Der Leuconostoc mesenterioïdes gehört nach W. Zopf[4]) zu den Bakteriaceen, das sind Spaltpilze, welche meistens Kokken-, Stäbchen- und Fadenform besitzen, deren Teilung stets nur nach einer Richtung des Raumes geht. Der Leuconostoc selbst bildet Kokken und Stäbchen und zeigt Sporenbildung in Kokken. Dieser Spaltpilz besitzt die Eigenschaft, in seinem Nährsubstrate (Rübensaft, Zuckerlösungen) allseitig sich entwickelnde Gallertklumpen von froschlaichartigem Aussehen zu bilden und geht die Entwickelung des Pilzes unter Umständen äußerst schnell vor sich. Durin beobachtete, daß in einem Holzbottiche, in dem Rübensaft gewesen und an dessen Wänden trotz des Auswaschens eine dünne Lage von Spaltpilzschleim zurückgeblieben war, eine ungefähr 49 hl betragende neutrale Lösung von Melasse mit 10 Proz. Zucker innerhalb 12 Stunden nach der Einbringung sich ihrer ganzen Ausdehnung nach in eine kompakte Gallertmasse umgewandelt hatte, welche aus den Schleimklümpchen des Pilzes zusammengesetzt war. Die Zuckermengen, die bei solch üppiger Vegetation von dem Pilze verbraucht werden, sind beträchtlich. Nach van Tieghem's Angaben werden bei Bildung von 40—45 Pfd. Spaltpilzmasse 100 Pfd. Zucker verbraucht. Der Rohrzucker wird nicht als solcher verzehrt, doch besitzt der Pilz die Fähigkeit, denselben durch ein Ferment zu Traubenzucker umzuwandeln und sich ihm so mundgerecht zu machen.

Der Froschlaichpilz wurde zuerst nur bei der Rübenverarbeitung beobachtet; P. Däumichen[5]) hat ihn dann später in nach Steffen gewaschenem Osmosezucker nachgewiesen. Bei einer Raffination mittels des Steffen'schen Waschverfahrens wurde nämlich in einer Raffinerie die Beobachtung gemacht, daß dieser gewaschene Osmosezucker von kleinen, braungefärbten, sehr elastischen Klümpchen, etwa von der Größe eines Hanfkornes, durchsetzt war. Die chemischen Eigenschaften dieses Körpers ließen nun keinen Zweifel zu, daß man es mit dem Dextran Scheibler's zu thun habe, welcher Körper das

---

1) Journal des fabricants de suere. 1875.
2) Die Gallertbildung des Zuckerrübensaftes. Charkow 1878.
3) Sur la gomme de sucrerie. (Ann. sc. nat. Sér. VI. Tom. VII.)
4) Die Spaltpilze. Breslau 1885.
5) Zeitschrift des Vereins für die Rübenzuckerindustrie des Deutschen Reichs. 1890. p. 701.

Produkt der Thätigkeit des Froschlaichpilzes ist. Das massenhafte Auftreten dieses Pilzes im Osmosezucker rührt wohl davon her, daß bei der Osmosearbeit das Wasser nicht heiß genug gehalten wurde, um denselben zu töten, da der Pilz nach Jubert noch bei 60° lebens- und fortpflanzungsfähig ist. Kurze Zeit darauf hat Herzfeld[1]) in einer Versammlung die Bemerkung gemacht, aus der hervorgeht, daß der Pilz auch im Raffineriebetriebe auftreten kann. Nach Herzfeld tritt er dann besonders auf, wenn unreife Rüben oder solche mit zu großer Stickstoffdüngung verarbeitet werden; ferner ist er in den verschiedenen Fabriken an verschiedenen Stellen beobachtet worden[2]). Er hat sich auch zuweilen in den Hodek'schen Saftfängern angesiedelt, ist dort weiter gewachsen, von da in den Dicksaft gelangt, welchen er auf scheinbar unerklärliche Weise sauer gemacht hat. Daß der Froschlaichpilz aber auch in einem Raffineriebetriebe, also in einem Betriebe, wo derselbe nicht mit Rübenverarbeitung kombiniert ist, auftreten kann, hat F. Strohmer[3]) nachgewiesen. In einer Melasse von gallertartiger Beschaffenheit, die aus einer außerösterreichischen Raffinerie stammte, welche zumeist Kolonialrohzucker verarbeitet, wurde das Vorhandensein des von Scheibler entdeckten Dextrans, des Gärungsproduktes des Froschlaichpilzes, konstatiert. Sollte demnach der Leuconostoc mesenterioïdes die Ursache der eigentümlichen Beschaffenheit der Melasse sein, so mußte sich auch dieser Spaltpilz durch mikroskopische Untersuchung nachweisen lassen. Der Pilz konnte auch thatsächlich durch das Mikroskop nachgewiesen werden, ebenso wie es auch gelang, denselben durch minimale Mengen der Melasse auf sterilisierten Zuckerrübenscheiben zu züchten. Die mikroskopische Untersuchung zeigte neben einzelnen Mycelfäden von Schimmelpilzen und dem Micrococcus prodigiosus Ehrenberg zahlreiche gallertumhüllte Kokkenzellen, welche in ihrem Verhalten dem Entwickelungsgange des Froschlaichpilzes vollkommen entsprachen und an der Gegenwart des Leuconostoc mesenterioïdes in der untersuchten Raffineriemelasse keinen Zweifel ließen.

Dieser Fall beweist, daß der Froschlaichpilz kein Specificum der bloßen Rübenverarbeitung ist, sondern daß er auch im Raffineriebetriebe auftreten und seine schädliche Wirkung äußern kann.

Sehr interessante Untersuchungen veröffentlichten C. Liesenberg und W. Zopf[4]) über den Froschlaichpilz der europäischen Rübenzucker- und der javanischen Rohrzuckerfabriken. Die beiden Pilze sind vermutlich völlig identisch, vielleicht zwei einander sehr nahestehende Varietäten, keinesfalls aber zweierlei Species. Die weiteren Untersuchungen führten zu Resul-

1) Zeitschrift des Vereins für die Rübenzuckerindustrie des Deutschen Reichs. 1891. p. 44.

2) Nach den Erfahrungen des Referenten ist der Pilz in den Jahren 1892, 1893 und 1894 in den sogenannten Eiweißfängern, sowie bei der Osmosearbeit manches Mal in ungeheueren Mengen aufgetreten.

3) Oesterreichisch-ungarische Zeitschrift für Zuckerindustrie und Landwirtschaft. 1891. p. 7.

4) Nach der Mitteilung von E. v. Lippmann in „Die Deutsche Zuckerindustrie". 1892. p. 904.

taten, die für die Praxis der Zuckerfabrikation von großer Bedeutung sind. Der Leuconostoc, nach Cienkowski ein Spaltpilz, nach van Tieghem ein Bacillus, zeigt in Wirklichkeit nach Bau und Entwickelung den typischen Charakter der Familie der Coccaceen. Außer der bekannten Froschlaichform bildet der Leuconostoc noch eine neue zweite Form, welche nackt ist, d. h. keine Gallerthülle aus Dextran besitzt und beim Impfen auf gewisse Nährböden entsteht. Diese nackte Form bildet einen dünneren, feinen, milchweißen Belag und besteht aus kurzen, leicht zerfallenden, aus Zellpaaren zusammengesetzten Fäden; auf günstigen Kulturböden (Zucker- oder Melasselösung) bildet sich binnen 12 bis 24 Stunden die Froschlaichform aus. Liesenberg und Zopf vermuten, daß der Leuconostoc in der Natur in dieser nackten Form auftritt und erst dann, wenn günstige Nährböden vorhanden sind, die Gallerthülle ausbildet. Da nun die nackte Form nicht sichtbar ist, so treten scheinbar überraschend auf Rübensäften, Melassen u. s. w. plötzlich die Gallertmassen der sogenannten Froschlaichform auf. Neben diesen beiden Formen tritt unter bestimmten Bedingungen (Kultur auf zuckerreicher, schwach alkalischer Gelatine bei 21—23°) noch eine eigentümliche Schleimform — eine Art Mittelding zwischen beiden — auf. Die Verff. betrachten das Dextran der Gallerthülle als ein Assimilations- und nicht als ein Gärungsprodukt; es kann daher von einer eigentlichen Dextrangärung nicht die Rede sein, auch vermag der Leuconostoc keinesfalls aus allen Substraten Dextran zu bilden, nachdem sich hier bedeutende Unterschiede bemerkbar machen. Feuchte Hitze tötet die gallertartige Form der Leuconostoczellen aus jungen Kulturen erst bei 87—88°, die nackte Form bei 83,5—86,5°. Trockener Hitze widersteht der Leuconostoc noch bei 100° 5 Minuten lang. Zellen aus älteren Kulturen werden schon bei 76° getötet; altes Kulturmaterial wird allmählich gänzlich keimungsunfähig. Das Temperaturoptimum des Leuconostoc liegt bei 30—35°, bei 9—11° tritt keine Entwickelung ein, bei 14—15° erfolgt erst binnen 4—5 Tagen Entwickelung und Säuerung, bei 40—43° hört das Wachstum auf. Für die Praxis ergiebt sich daraus der wichtige Schluß, daß man die Entwickelung des Leuconostoc hindern kann, wenn man die Säfte stets auf Temperaturen über 43° hält, also namentlich die Diffusionsarbeit so leitet, daß diese Temperatur möglichst rasch erreicht wird; getötet wird aber dieser Pilz hierbei noch nicht, denn die Tötung erfolgt erst bei 87—88°. Wenn daher die Temperatur unter 43° sinkt, so entwickelt sich der Pilz wieder weiter. Die Gallertmembran schützt den Pilz jedenfalls vor den Folgen allzustarken Eintrocknens, denn aus Java stammende, anscheinend völlig harte und trockene Pilzmassen zeigten sich sogar nach 3½-jährigem Austrocknen an der Luft größtenteils noch lebensfähig.

Ueber einen neuen Froschlaich der Zuckerfabriken berichten A. Koch und H. Hosaeus[1]). In einer Zuckerfabrik trat bei einer Zuckerlösung von 91 Proz. Reinheit, als daraus das

1) Vorliegende Zeitschrift. 1894. p. 225.

zweite Produkt gewonnen werden sollte, eine an Froschlaichmassen der Rübenzuckerfabriken erinnernde Gallertmasse auf. Diese Masse bestand aber nicht aus Leuconostoc, sondern aus einer anderen, morphologisch höchst wahrscheinlich einen neuen und sehr interessanten Typus darstellenden Bakterienform. Aus den Untersuchungen geht hervor, daß man es hier offenbar mit einer Bakterienform zu thun hat, deren Stäbchen ganz vorzugsweise nur an ihrer einen Längsseite Gallerte abscheiden, die sich schließlich zu einem im Verhältnisse zur Dimension des produzierenden Stäbchens kolossalen Gallertfaden oder Gallertstiel entwickelt. Wenn eines der Bakterienstäbchen sich teilt oder jedes Stäbchen in derselben Weise Gallerte produziert, werden sich die Gallertfäden ebenfalls teilen oder verzweigen müssen.

Es liegt hier offenbar ein ganz neuer Typus, nämlich einer gestielten Bakterienform vor und erinnert dies sofort daran, daß unter den Diatomeen Formen vorkommen, die ebenfalls wohl entwickelte, verzweigte Gallertstiele bilden. Koch und Hosaeus gelang es leider nicht, die neue Bakterienform rein zu kultivieren oder auch das Ausgangsmaterial in künstlich zusammengestellten Nährböden zum ausgiebigen Wachsen zu bringen. In der Zuckerfabrik verschwand die Erscheinung sofort, als die Temperatur der Zuckerlösung von 42 auf 50° (jedenfalls C) erhöht wurde. Vielleicht hat diese Temperatur schon genügt, um die Gallerte zum Verquellen zu bringen, wie dies auch beim leichten Erwärmen auf dem Deckglase beobachtet wurde. Da in der Litteratur derartig gestielte Bakterienformen nicht bekannt sind, so bezeichnen Koch und Hosaeus, vorbehaltlich näherer Untersuchung, die vorliegende Form als Bacterium pediculatum.

Große Aehnlichkeit mit dem Leuconostoc mesenterioïdes besitzt der Spaltpilz Ascococcus Billrothii Cohn. Er bildet auf gekochten Scheiben von Zuckerrüben, Mohrrüben, Kohlrüben etc. große gerunzelte Zooglöen von weißlicher oder grünlicher Färbung, welche, wie erwähnt, mit Leuconostoc große habituelle Aehnlichkeit besitzen und mit diesen leicht verwechselt werden können. Bei der Bereitung des Zuckerrübensaftes gelangt der Pilz in diesen hinein und ruft nach Zopf eine schleimige Gärung hervor, durch welche ein Teil des Zuckers in gummiartige Substanzen (?) übergeführt und wahrscheinlich Buttersäure erzeugt wird. Von dem Auftreten dieses Spaltpilzes in der Fabrikation des Zuckers hat man allerdings in den letzten Jahren nichts gehört; möglicherweise wurde er früher beobachtet, doch konnten wir in der Litteratur keine Angaben finden. Dasselbe ist auch mit dem Spaltpilze Clostridium Polymyxa Prazmowski der Fall, der auf gekochten Zuckerrüben Gallertstöcke bildet, welche makroskopisch leicht mit Leuconostoc und Ascococcus Billrothii verwechselt werden können. Auch dieser Pilz scheint in der Zuckerfabrikation noch nicht besonders aufgetreten zu sein. — Auf jeden Fall verdient aber der Froschlaichpilz die vollste Aufmerksamkeit der Zuckertechniker, da er unter Umständen zu einem verderblichen Feinde werden und einmal eingenistet, nur mit großer Schwierigkeit entfernt, resp. vernichtet werden kann.

Neben dem Froschlaichpilze können sich aber auch andere Bakterienformen im Betriebe der Zuckerfabrikation unliebsam geltend machen. F. Strohmer[1]) fand in einem unfiltrierten und filtrierten Syrup, welche beide aus einem Javazucker hergestellt wurden, zahlreiche Bakterien. Wegen Zeitmangel konnten damals keine Isolierung und Reinkulturen vorgenommen werden; die meisten der vorhandenen Spaltpilze zeigten aber eine auffallende Aehnlichkeit mit dem Buttersäurepilz, Clostridium butyricum Prazmowski. Eine Bildung von Buttersäure konnte jedoch nicht wahrgenommen werden. Die ganze Erscheinung äußerte sich durch eine Trübung der Säfte, auffallend war nur, daß der sogenannte filtrierte, also der reinere Syrup weit trüber war und viel mehr Spaltpilze als der unfiltrierte, unreinere enthielt. Es mußte demnach die Filtration eine ungenügende gewesen sein. Das als Filtermaterial zu benutzende Spodium war nun thatsächlich mit Spaltpilzen infiziert. Das Spodium war wohl schon benutzt, jedoch zur Filtration der genannten Syrupe noch nicht gebraucht. Einen dem Buttersäurepilze ähnlichen Spaltpilz fand Strohmer auch in einem Syrup aus einer ungarischen Zuckerfabrik. Gelegentlich des Studiums über das Verhalten des Rohzuckers beim Lagern fand Strohmer[2]), daß die Zersetzung, welche bei feucht aufbewahrtem Rohzucker rasch, bei ungenügend alkalischen Rohzuckern allmählich eintritt, auf einer Gärungserscheinung beruhte und konnte er mit der fortschreitenden Zersetzung immer auch eine fortschreitende Vermehrung verschiedener Mikroorganismen wahrnehmen. Unter den vielen Mikroorganismen waren Kokken, Stäbchen und Spirillen vertreten, am häufigsten zeigte sich jedoch ein dem Buttersäurepilz ähnlicher Spaltpilz. A. Herzfeld[3]) beobachtete das Auftreten rotfärbender Pilze im Rohzucker. Ein Nachprodukt war nämlich von zahlreichen kleinen, darunter selbst erbsen-, bohnen- und haselnußgroßen Klumpen durchsetzt. Bei der Affination nach dem Steffen'schen Waschverfahren färbte sich dieser Zucker von dem Klumpen ausgehend rötlich. Die mikroskopische Untersuchung ergab die Anwesenheit von ungeheuren Mengen eines Schimmelpilzes in den Klumpen. Aeltere Individuen dieses Schimmelpilzes enthielten vielfach den roten Farbstoff eingelagert. Die Pilzklumpen zeigten eine sauere Reaktion und besaßen eine ganz bedeutende invertierende Wirkung. A. Frank[4]) hat diese Pilze ebenfalls mikroskopisch untersucht. Die Hauptmasse war von sehr kräftigen, protoplasmareichen Pilzschläuchen und deren isolierten Gliedern gebildet, an denen man häufig eine endständige, große, ungefähr kugelige, blasenförmige Erweiterung, nicht selten mit sporenartigen Einschlüssen, beobachtete, wonach der Pilz in die Familie

---

1) Oesterreichisch-ungar. Zeitschrift für Zuckerindustrie und Landwirtschaft. 1891. p. 10.

2) Oesterr.-ungar. Zeitschrift für Zuckerindustrie und Landwirtschaft. 1893. p. 216.

3) Korrespondenzblatt des Vereins akademisch gebildeter Zuckertechniker. 1891. p. 14.

4) Zeitschrift des Vereins für die Rübenzuckerindustrie des Deutschen Reichs. 1891. p. 662.

der Saprolegniaceen oder Chytridiaceen gehören dürfte. Die Pilzschläuche sind vielfach farblos und machen den Eindruck lebender, vegetationsfähiger Gebilde. In vielen anderen ist das Protoplasma kontrahiert und durch einen roten Farbstoff intensiv tingiert; diese sind augenscheinlich tot und haben sich höchst wahrscheinlich mit einem in der Umgebung des Pilzes schon vorhandenen Farbstoff erst nachträglich gefärbt. Der zweite Pilzorganismus ist ein Bacillus, der ohne Zweifel ebenfalls lebensfähig ist. Die Vermutung liegt nahe, daß hier der Bacillus der Erzeuger des in Wasser löslichen und den Zucker färbenden roten Farbstoffes gewesen ist, da ja viele chromogene Spaltpilze bekannt sind. Weitere Untersuchungen zur genauen Bestimmung der Natur des Pilzes sind bis jetzt nicht bekannt geworden.

Ein sehr bekannter Spaltpilz ist der in die Gruppe der Coccaceen gehörende Micrococcus prodigiosus (Ehrenberg), auch Wunderblut, Hostienblut, Pilz der roten Milch genannt. Dieser Pilz kommt vorzugsweise auf stärkehaltigen Substraten, gekochten Kartoffelscheiben vor und verleiht denselben ein ganz rotes Aussehen. Aber auch auf einem Abfallsprodukte der Zuckerfabrikation — dem Saturationsschlamme — ist er ein häufiger Gast, welchem er stellenweise oft ein ganz blutrotes Aussehen verleiht.

Damit wäre die Reihe der in dem Betriebe der Zuckerfabrikation bis jetzt bekannt gewordenen Bakterien geschlossen. Aus diesen verhältnismäßig wenigen Angaben ist aber zu sehen, daß die Thätigkeit dieser mikroskopisch kleinen Lebewesen unter Umständen zu einem bedrohlichen Umfange führen und den ungestörten Betrieb der Zuckerfabrik ernstlich gefährden kann. Auf diesem Gebiete bedarf es aber noch einer emsigen Arbeit, denn es unterliegt keinem Zweifel, daß mancher abnormale Fabrikationsverlauf, wie z. B. das Schäumen der Nachprodukte in den Reserven, der nicht immer durch eine chemische Untersuchung seine befriedigende Aufklärung findet, in dem Auftreten der Bakterien seine Ursache hat.

Der Zuckertechniker wird daher der Anwendung des Mikroskopes nicht mehr entraten können und es ist sicherlich die Zeit nicht mehr fern, wo ihm dasselbe zu einem unentbehrlichen Hilfsinstrumente geworden sein wird. Dazu kommt aber noch ein weiterer Umstand. Das Rohprodukt der europäischen Zuckerfabriken, die Zuckerrübe, gehört unstreitig zu denjenigen Kulturpflanzen, welche am zahlreichsten von parasitären Krankheiten ergriffen wird. Dazu kommen aber auch noch zahlreiche Feinde aus dem Tierreiche, von welchen namentlich die mikroskopisch kleinen Tiere alljährlich einen kolossalen Schaden verursachen. Von welcher Wichtigkeit alsdann das Mikroskop — nicht nur für den Landwirt, sondern auch für den Zuckertechniker — ist, werden wir in den folgenden Sammelreferaten über die wichtigsten tierischen und parasitären Feinde der Zuckerrübe entwickeln.

3. Februar 1895.

Original-Referate aus bakteriologischen und parasitologischen Instituten, Laboratorien etc.

Landwirtschaftl. Versuchsstation Bonn.

Burri, R., Herfeldt, E. und **Stutzer, A.**, Bakteriologisch-chemische Forschungen über die Ursachen der Stickstoffverluste in faulenden organischen Stoffen, insbesondere im Stallmiste und in der Jauche. (Journal f. Landwirtschaft. Jahrg. 1894. p. 329—384.)

In dieser ziemlich umfangreichen Arbeit haben es die Verff. unternommen, die von Praktikern und Theoretikern viel umstrittene Frage der N-Konservierung unter Heranziehung bakteriologisch-chemischer Untersuchungen von neuen Gesichtspunkten aus zu beleuchten. Der ganze Stoff ist in sieben Hauptabschnitte geteilt, von denen die drei ersten vorwiegend referierender Natur sind.

I. Welche N-Verbindungen des Stallmistes unterliegen bei dessen Gärung und Fäulnis vorzugsweise einer Zersetzung unter Bildung von Ammoniak? Von den drei Materialien, aus welchen der Stallmist erzeugt wird, nämlich Harn, Kot und Einstreu, kommt das erstgenannte zweifelsohne zuerst in Betracht, und zwar wegen des hohen Gehaltes an Harnstoff, bezw. Hippursäure, weniger der nur in geringen Mengen darin vorkommenden Harnsäure wegen. Unter den N-haltigen Bestandteilen des Kotes dürften die unverdauten Futterbestandteile ziemlich widerstandsfähig gegen Bakterien sein. Die Einstreu, z. B. Stroh, liefert wahrscheinlich nur in denjenigen N-Verbindungen leicht zersetzbares Material, welche durch Pepsin-Salzsäure in Lösung gehen können. Der nicht verdauliche N wird vermutlich erst nach langer Zeit, nachdem der Mist mürbe geworden ist, aus seinen organischen Verbindungen befreit. Nach Ansicht der Verff. „gipfelt die ganze Konservierungsfrage des Mistes und der Jauche in dem Studium der Zersetzungserscheinungen des Harnstoffes und der richtigen Absorption des daraus gebildeten Ammoniaks“.

II. Kann bei der Fäulnis organischer, N-haltiger Verbindungen ein Verlust an freiem, gasförmigem N auftreten, falls Nitrite oder Nitrate weder vorübergehend, noch dauernd dabei zugegen sind? Diese Frage wird unter Hinweis auf die Versuchsergebnisse von Hüfner, Kellner und Yoshji, Ehrenberg, König, Immendorf im verneinenden Sinne beantwortet.

III. Die Verluste an freiem, gasförmigem N bei der Anwesenheit von Nitriten und Nitraten. Durch welche Maßregeln sind diese Verluste zu vermeiden oder möglichst zu beschränken? Daß bei Anwesenheit von Nitraten und Nitriten N-Verluste eintreten können, ist seit längerer Zeit festgestellt. Der Vorgang selber wurde von Ehrenberg und Anderen durch

chemische Prozesse erklärt. Die Verff. machen darauf aufmerksam, daß, wie sie sich gelegentlich neuerer Arbeiten überzeugen konnten, in der Regel Mikroorganismen an den N-Verlusten bei Gegenwart von Salpeter die Schuld tragen. Ueber die Maßnahmen, welche zur Verhütung von Verlusten an freiem N zu treffen sind, sei folgendes erwähnt. Da für das Zustandekommen der Nitrifikation große Mengen von O notwendig sind, so wird dieselbe im Innern eines Dunghaufens, sowie im Tiefstalldünger, wo der Mist von den Tieren beständig festgetreten wird, nicht eintreten, wohl aber an der Oberfläche, wie Immendorf experimentell nachgewiesen hat. Es handelt sich also namentlich darum, die Nitrifikation auf dem Düngerhaufen zu vermeiden, was am besten durch festes Treten und geeignete Bedeckung geschieht, also durch Fernhaltung des atmosphärischen Sauerstoffes.

IV. Untersuchungen über Harnstoff zersetzende Bakterien. In der Einleitung zu diesem Abschnitte geben die Verff. einen historischen Ueberblick der wichtigsten Arbeiten, welche sich bisher mit Harnstoff zersetzenden Mikroorganismen befaßt haben. Nach Erwähnung der Entdeckungen von Pasteur und van Tieghem folgt eine kurze Besprechung der Arbeiten von Leube und Miquel. Des Letzteren Untersuchungen sind bis jetzt die einzigen, bis zu einem gewissen Grade erschöpfenden und müssen geradezu als grundlegend bezeichnet werden.

Die von den Verff. isolierten Harnstoff zerlegenden Bakterien stammen sämtlich aus Torfmull, und zwar aus verschiedenen Proben. Es ist diese Thatsache insofern auffällig, als die betreffenden Arten eine alkalische Reaktion des Nährsubstrates einer neutralen entschieden vorziehen und auf saurem Boden gar nicht fortkommen. Nun reagiert aber ein wässeriger Auszug von Torfmull immer sauer und zeigten z. B. zwei bei den Untersuchungen verwendete Torfproben, auf 100 g Trockensubstanz berechnet, einen Säuregehalt äquivalent 0,538, bezw. 0,562 g H_2SO_4. Daß Torfmull verschiedener Herkunft regelmäßig energisch Harnstoff zersetzende Bakterien beherbergt, zeigte sich gelegentlich bei Versuchen über die desinfizierende Kraft des Torfes. Als dabei Torf mit frischem Urin zusammengebracht wurde, war nach 24 bis 2×24 Stunden bei 30° C in dem Gemische anstatt der ursprünglich sauren, stark alkalische Reaktion, verbunden mit intensivem Geruch nach Ammoniak. War der betreffende Torf vorher durch strömenden Dampf sterilisiert, so blieb das Gemisch dauernd sauer.

Versuche, mittels des Plattenverfahrens unter Anwendung gewöhnlicher Nährgelatine die Erreger der ammoniakalischen Gärung aus Torfproben direkt zu isolieren, schlugen fehl; ebenso war es nicht möglich, durch Plattenaussaat aus gärenden Harnkulturen selbst die fraglichen Bakterien rein zu gewinnen, weil gewöhnliche, schnell verflüssigende Saprophyten die gesuchten Arten überwucherten. Besseren Erfolg brachte die Anwendung von Harnstoff enthaltenden Nährböden. Es wurden verwendet teils eine natürliche Harngelatine, durch Zusatz von 10 Proz. Gelatine zu aufgekochtem und neutralisiertem Harn hergestellt, teils eine künstliche Harngelatine, durch Versetzen einer

gewöhnlichen Nährgelatine mit 2 Proz. Harnstoff hergestellt, ferner Harnagar, Harnstoffbouillon u. s. w.

Das Wachstum der Harnstoff zersetzenden Bakterien in harnstoffhaltiger Gelatine ruft in letzterer gewisse Erscheinungen hervor, die das Auffinden dieser Arten sehr erleichtern. Abgesehen davon, daß sich verflüssigende Vertreter der Gruppe sehr leicht mittels Prüfung durch empfindliche Reagenzpapiere infolge ihrer stark alkalischen Reaktion erkennen lassen, bieten Plattenkulturen bei schwacher Vergrößerung ein sehr charakteristisches Bild. Die von Ammoniakbakterien gebildeten Kolonieen sind nämlich von einer Unzahl in der Größe wechselnder Ausscheidungen umgeben, welche einen trüben Hof erzeugen und aus biskuit- oder hantelförmigen Gebilden krystallinischer Natur bestehen. Bei günstiger Verteilung der Kolonieen auf der Platte lassen sich auf diese Weise die Ammoniak bildenden Kolonieen schon von bloßem Auge erkennen. Die Verff. konnten nun aus vier Torfproben drei verschiedene Bakterienarten isolieren, welche größere Mengen von Harnstoff in kurzer Zeit zu zersetzen vermögen und als Bacillus ureae I, II und III bezeichnet worden sind. Bezüglich der eingehenden Beschreibungen der morphologischen und kulturellen Verhältnisse dieser drei Arten muß auf das Original verwiesen werden. Hingegen sei hier der Inhalt des mit „Chemisch-physiologisches Verhalten“ überschriebenen Unterabschnittes kurz wiedergegeben.

Nach Miquel's Vorgange unterscheiden die Verff. auch zwischen Gärungsschnelligkeit (rapidité) und quantitativem Gärvermögen (puissance). Die Versuche beziehen sich vorwiegend auf die Feststellung der Gärungsschnelligkeit der einzelnen isolierten Arten. Als Gärmaterial diente schwach alkalische (0,05 Proz. Soda) 2-proz. Harnstoffbouillon. Als Versuchsgefäße wurden Kölbchen von ca. 250 ccm Inhalt verwendet, welche seitlich einen kurzen Tubus trugen, welcher gas- und bakteriendicht mit einem kapillaren Ausgußrohre verbunden war. Um die Gärung in den einzelnen Stadien verfolgen zu können, wurden von Zeit zu Zeit nach Abbrechen der sonst zugeschmolzenen Kapillare kleine Flüssigkeitsmengen entnommen und dieselben der chemischen Analyse unterworfen. Auf diese Weise wurde festgestellt, daß B. u. I bei 30° C ungefähr 6 Tage braucht, um 20 g Harnstoff im Lit. Bouillon vollständig zu zerlegen, während B. u. II und B. u. III die gleiche Arbeit innerhalb 24 Stunden leisten.

Der Gärungsprozeß wurde nun für die beiden letzteren Arten innerhalb 24 Stunden im einzelnen verfolgt und es stellte sich dabei heraus, daß die eigentliche Gärung, d. h. die Zeit vom Beginne der Harnstoffzersetzung bis zum Ende derselben nur ca. 12 Stunden in Anspruch nimmt. Demnach entspricht die mittlere Leistung dieser Arten per Stunde ungefähr der Zersetzung von 1,6 g Harnstoff. Bei B. u. I berechnet sich hingegen unter gleichen Verhältnissen diese Zahl auf 0,14 g. Die letztere Art ist also von den beiden ersteren physiologisch scharf getrennt. Dieses drückt sich auch deutlich im „quantitativen Gärvermögen“ aus. Bei Verwendung von 50 g Harnstoff im Lit. Bouillon vergärt B. u. I über-

haupt nicht vollständig, sondern stellt bald seine Thätigkeit ein. B. u. II und B. u. III hingegen vermögen die 50 g Harnstoff innerhalb 10 Tagen vollständig zu zerlegen. Die vollständige Zersetzung von 100 g Harnstoff per Lit. Bouillon gelang jedoch weder mit B. u. II noch mit B. u. III.

Die Hauptmerkmale der drei beschriebenen Arten sind in folgender dem Originale entnommenen Uebersicht zusammengefaßt:

<table>
<tr><td rowspan="3">Stäbchenbakterien mit dem Vermögen, Harnstoff in kohlensaures Ammoniak umzuwandeln.</td><td>Gärungsvermögen mäßig. In ca. 6 Tagen wurden per Lit. Bouillon 20 g Harnstoff zersetzt.</td><td>2 Proz. Harnstoffgelatine wird in wenigen Tagen verflüssigt. Bacillen von wechselnder Länge. Dicke höchstens 0,7 μ. Beweglichkeit vorhanden.</td><td>Bacillus ureae I Burri.</td></tr>
<tr><td rowspan="2">Gärungsvermögen sehr stark ausgeprägt. In ca. 12 Stunden wurden per Liter Bouillon 20 g Harnstoff zersetzt.</td><td>2 Proz. Harnstoffgelatine wird nicht verflüssigt. Bacillen meist 3—5 μ lang. Dicke mindestens 0,8 μ. Beweglichkeit nicht vorhanden.</td><td>Bacillus ureae II Burri.</td></tr>
<tr><td>2 Proz. Harnstoffgelatine wird in wenigen Tagen verflüssigt. Bacillen von wechselnder Länge. Dicke mindestens 0,8 μ. Beweglichkeit vorhanden.</td><td>Bacillus ureae III Burri (mit B. u. α Miquel wahrscheinl. id.)</td></tr>
</table>

V. Die Bildung von kohlensaurem Ammoniak aus Harnstoff, Harnsäure und Hippursäure durch Einwirkung der Bakterien. Die hier mitgeteilten Versuche sollten weniger unter Verwendung von Reinkulturen, sondern mit Anpassung an die Verhältnisse der landwirtschaftlichen Praxis Aufschluß über die Energie geben, mit welcher genannte Körper durch Bakterien zerlegt werden. Verwendet wurde eine schwach alkalische Nährbouillon oder eine verdünnte Lösung von Nährsalzen, welchen gewisse Mengen der zur Prüfung gelangenden Verbindungen zugesetzt waren. Die Untersuchung der Zersetzungsprodukte geschah in der Regel nach 10 Tagen und die Kulturen standen im Dunkeln bei 25 ° C.

a) Harnstoff. 1 Proz. Harnstoffbouillon wurde geimpft einmal mit einem Tropfen Mistjauche, ein andermal mit einem Tropfen einer Bakterienaufschwemmung von B. u. III und ein drittes Mal mit einem Gemenge der genannten Materialien. Bei sämtlichen Versuchen war der Harnstoff vollständig zersetzt, und zwar hatten die reinen Ammoniakbakterien den Pepton-N nicht wesentlich angegriffen, während bei den mit Jauche geimpften Kulturen im Mittel 22 Proz. des ursprünglichen Pepton-N in flüchtige N-Verbindungen umgewandelt waren.

b) Harnsäure. Als Impfmaterial diente je ein Tropfen Jauche. Die von Sestini über die Zersetzung dieses Körpers gemachten Beobachtungen konnten die Verff. bestätigen. Harnsäure im Verhältnis 1 : 750 Leitungswasser war nach 8 Tagen vollständig zerlegt. Besser als Leitungswasser eignete sich eine sehr verdünnte Nährsalzlösung, 0,2 g Harnsäure in 100 ccm. Dieselbe war nach 10 Tagen derart zersetzt, daß 90 Proz. des ursprünglichen Harnsäurestickstoffes in Ammoniak-N übergeführt waren. Als die Menge der Harnsäure so gewählt wurde, daß in 100 ccm der Lösung 0,100 g N vorhanden

waren, ergab die Analyse nach 10 Tagen, daß von diesen 100 mg = 84 mg zum Teil in fest gebundenes, zum Teil in flüchtiges Ammoniak übergeführt waren. Wurde anstatt der Salzlösung Fleischpeptonbouillon verwendet, so gestalteten sich die Resultate weniger günstig. Immerhin wurden auch in diesem Falle unter sonst gleichen Verhältnissen 59 Proz. des ursprünglichen Harnsäurestickstoffes in Ammoniak-N umgewandelt.

c) Hippursäure. Es wurde die gleiche Versuchsanordnung innegehalten, wie bei Harnsäure. 1 g Hippursäure in Bouillon oder Nährsalzlösung wurde von den Jauchebakterien überhaupt nicht angegriffen, jedenfalls infolge der stark sauren Reaktion des Substrates. Wohl aber trat eine teilweise Zersetzung ein, wenn hippursaurer Kalk verwendet wurde. Die Menge des in Ammoniak-N übergegangenen Hippursäure-N betrug in Nährsalzlösung 34 Proz., in Nährbouillon 43 Proz. Hier hatte sich also ein ungünstiger Einfluß des Peptonstickstoffes nicht bemerkbar gemacht.

Aus den Versuchen dieses Abschnittes geht hervor, daß von den Harnbestandteilen der Mistjauche am schnellsten und vollständigsten Harnstoff, sodann Harnsäure und an letzter Stelle Hippursäure durch gewisse Bakterien unter Ammoniakabspaltung zerlegt wird.

VI. Das Verhalten der Ammoniakbakterien gegen größere Mengen von kohlensaurem Ammoniak. Bevor die Verff. zum Studium der Einwirkung von voraussichtlich schädlichen Substanzen übergingen, wollten sie feststellen, ob die von den Ammoniakbakterien selbst erzeugte, stark alkalisch reagierende Verbindung nicht entwickelungshemmend wirke. Zu diesem Zwecke wurde zu einer 2-proz. Harnstoffbouillon so viel kohlensaures Ammoniak gegeben, daß der Gehalt 1,0—1,5—2,0—2,5—3,0—3,5 Proz. NH_3 entsprach. Die Jauchebakterien wurden teils eine Stunde, teils 24 Stunden in dieser Mischung belassen und nach dieser Zeit Platten mit 2-proz. Harnstoffgelatine gegossen. In sämtlichen fand üppige Entwickelung von Ammoniakbakterien statt. Die Ammoniakbakterien der Jauche sind somit gegen äußerst starke Lösungen von kohlensaurem Ammoniak völlig unempfindlich.

VII. Die Verhinderung der Ammoniakbildung seitens der Bakterien durch Einwirkung von Schwefelsäure. Da die Ammoniakbakterien gewissermaßen dem Aufenthalte in stark alkalischen Substraten angepaßt sind, so war anzunehmen, daß sie sich um so empfindlicher gegen scharfe Säuren zeigen. Anschließend an frühere bei Reinkulturen gemachte Beobachtungen wurde nun auch das Bakteriengemisch der Jauche und des in Zersetzung begriffenen Kuhharns nach dieser Richtung hin geprüft, und zwar mit folgenden Ergebnissen:

1) Jauchebakterien, die eine Stunde lang der Einwirkung einer 0,5-proz. H_2SO_4 ausgesetzt waren, riefen nach dieser Zeit in Harnstoffbouillon lebhafte Ammoniakbildung hervor.

2) Wirkte hingegen die H_2SO_4 zwei oder mehrere Tage lang ein, so genügte ein Gehalt von 0,3 Proz., um die Ammoniak bildende Thätigkeit der Jauchebakterien aufzuheben.

3) Weitere Versuche zeigten, daß die Menge der Säure, welche man zur Unterdrückung der Ammoniakbildung verwendet, unter Umständen eine sehr hohe werden kann. Z. B. mußte zu altem, in Gärung begriffenem Kuhharne 1,8 Proz. H_2SO_4 gesetzt werden, um dauernd saure Reaktion hervorzurufen. Durch Bestimmung des Alkalitätsgrades des betreffenden Substrates bestätigt sich aber immer wieder die Thatsache, daß nach Neutralisation des schon vorhandenen Ammonkarbonates nur wenige Zehntelproz. Säure notwendig sind, um die Harnstoffgärung zu unterdrücken. Burri (Bonn).

Kgl. Lehranstalt zu Geisenheim.

Goethe, R., Bericht der königl. Lehranstalt für Obst-, Wein- und Gartenbau zu Geisenheim a. Rh. für das Etatsjahr 1893/94. 8°. 91 p. Wiesbaden 1894.

Wie alljährlich, so bringt auch dieser Bericht nach den kurzen, kaum 7 Seiten umfassenden Schulnachrichten eine Zusammenstellung der wissenschaftlichen Arbeiten, welche von der Lehranstalt und der mit ihr verknüpften Versuchsstation im Laufe des Jahres in Angriff genommen oder erledigt worden sind. Man erhält somit durch diesen Jahresbericht eine kurze, knappe Uebersicht über die gesamte Thätigkeit des Institutes und erfährt den wesentlichsten Inhalt aller von ihm ausgegangenen, sonst in vielen verschiedenen Zeitschriften zerstreuten, teilweise auch noch unveröffentlichten Arbeiten.

Goethe selbst berichtet über den Verlauf der Gefäßbündel in Aepfeln und Birnen, den er bei Bestimmung der Sorten mehr in den Vordergrund gestellt sehen möchte, als es bisher geschieht, über die Entstehung der ringförmig um das apikale Ende der Birnen und Apfelfrüchte herumlaufenden Rostpartieen, die namentlich im Berichtsjahre sehr häufig beobachtet wurden, und die er auf Frostbeschädigung der jungen Früchte zurückführt, und über eine neue Klassifikation der Birnen, die sich in erster Linie auf die Form der Früchte, der Stiel- und Kelchgrube stützt. Endlich giebt Goethe einen Ueberblick über das Auftreten tierischer Schädlinge und pflanzlicher Parasiten an den Obstbäumen und über die von der Lehranstalt durchgeführten Neuerungen in Bezug auf Bekämpfung derselben. Einen besonderen Abschnitt bilden die Veredelungsversuche der Rebveredelungsstation, welche durchgeführt werden, um die für unser Klima geeignete Veredelungsmethode und Sortenveredelung zu ermitteln. Die Versuche eröffnen die Aussicht, daß es auch bei uns gelingen wird, ähnlich wie in Oesterreich Veredelungen zu erziehen, die widerstandsfähig gegen Reblaus und Klima sind.

Weinbaulehrer **Zweifler** hat in den Kellereien des Institutes im Großen Versuche mit reiner Hefe bei Obst-, Beeren- und Traubenweinen angestellt, die in allen Fällen mehr oder weniger deutlich zu gunsten der reinen Hefen ausfielen. Er berichtet ferner über eine Reihe mehr den Praktiker interessierende Versuche betreffend Im-

prägnierung von Weinbergspfählen, Umhüllung von Trauben mit Pergamindüten, Haltbarmachung der Flaschenetiquetten, Einfluß des Schnittes auf Wachstum und Ertrag des Rebstockes, Einfluß starker, schwacher und unvollkommener Triebe auf die Qualität der daran sitzenden Trauben, Versuche mit Bekämpfungsmitteln pilzlicher Feinde der Rebe und noch manches andere.

Nach einer kurzen Uebersicht über die Thätigkeit auf dem Gebiete des Gartenbaues von **Seeligmüller** folgt der Bericht der pflanzenphysiologischen Versuchsstation, erstattet von **J. Wortmann**, und des chemischen Laboratoriums, erstattet von **P. Kulisch.**

Die pflanzenphysiologische Versuchsstation hat im Berichtsjahre ausschließlich auf gärungstechnischem und bakteriologischem Gebiete gearbeitet und sie hat sich dabei auch in erster Linie in den Dienst der Praxis gestellt. **Wortmann** (Versuche über die Gärthätigkeit verschiedener Weinheferassen mit spezieller Berücksichtigung der Anwendung von reinen Weinhefen in der Paxis) prüfte, ob verschiedene Weinheferassen ihre ihnen eigentümlichen physiologischen Merkmale in verschiedenem Gärmateriale beibehalten. Er ließ zudem 3mal 41 verschiedene Moste verschiedenster Herkunft mit drei verschiedenen Hefen vergären. Das Résultat der Untersuchungen ist in einer größeren Arbeit (Untersuchungen über reine Hefen. Teil II), die in den Landwirtschaftl. Jahrbüchern. 1894. p. 535—585 erschienen ist, niedergelegt. Die Frage wurde in bejahendem Sinne beantwortet. Nebenbei ermöglichte das beträchtliche Analysenmaterial Schlüsse auf das gegenseitige Verhältnis der Gärprodukte, für welches ein bestimmtes Gesetz jedoch nicht zu erkennen ist. — Untersuchungen über den Einfluß der Hefemengen auf den Verlauf der Gärung sowie auf die quantitativen Verhältnisse der Gärprodukte hat Wortmann noch nicht zu Ende führen können, weist daher vorläufig nur auf deren Wichtigkeit und ihre Inangriffnahme hin. Sodann machte er auf die Brauchbarkeit und Bequemlichkeiten aufmerksam, welche der konzentrierte sizilianische Most für Pilzkulturen gewährt, und führte endlich einige Versuche mit Formaldehyd[1]) durch, welche die hohe antibakterielle Wirkung dieses Stoffes zeigten, und ergaben, daß Wasserkulturpflanzen schon in Lösungen von 1 : 10000 geschädigt wurden. Auch der Konservierung von Pflanzenteilen in Formaldehydlösungen wird Erwähnung gethan, sowie darauf hingewiesen, daß sich die Verbindung vielleicht auch zur Bekämpfung des Hausschwammes und zur Desinfektion der Reblausherde an Stelle von Schwefelkohlenstoff verwerten ließe. Dagegen ist seine Verwendung zur Bekämpfung tierischer Schädlinge wegen der gleichzeitigen starken Wirkung auf die Pflanzenzelle unmöglich.

Ref. selbst, damals noch Assistent Wortmann's, studierte die morphologischen Eigenschaften der Geisenheimer Reinhefen, worüber ebenfalls eine größere Arbeit in den Landwirtschaftl. Jahrbüchern. 1894. p. 587—621 erschienen ist.

Bisher noch nicht ausführlicher publizierte Versuche bringen **C. Schulze** über das Pasteurisieren des Weines und **A. Koch** über Rebenmüdigkeit.

---

1) s. Bot. Ztg. 1894.

Schulze konstatierte experimentell, daß Hefe im Weine bei um so niederer Temperatur abstirbt, je länger die Temperaturwirkung dauert und je höher der Alkoholgehalt des Weines ist. Bei mehr als 10 Gew.-Proz. Alkohol genügte z. B. schon eine 1—2-stündige Erwärmung auf 40°. Mehrere daraufhin geprüfte verschiedene Hefen speziell auch Nachgärungshefen zeigten keine wesentlich höhere Widerstandsfähigkeit.

A. Koch war von der Deutschen Landwirtschaftsgesellschaft in der letzten Hälfte des Berichtsjahres berufen worden, an der Geisenheimer Versuchsstation Untersuchungen durchzuführen, inwieweit Bodenorganismen bei der Erzeugung der Rebenmüdigkeit im Spiele seien. Er ist im Berichtsjahre über die Vorversuche zur Entscheidung dieser Frage nicht wesentlich hinausgekommen, die sich auf Ermittelung der Temperatur erstreckten, bei welcher sich Bodenmassen sterilisieren lassen, sowie auf die Brauchbarkeit chemischer Mittel (Schwefelkohlenstoff und Formaldehyd) zu gleichem Zwecke.

Das chemische Laboratorium der Lehranstalt (**P. Kulisch**) bringt Mitteilungen über die Zusammensetzung der konzentrierten Traubenmoste und deren Wert für die Weinbereitung, Analysen 1893er Rheingauer Moste, Obstanalysen und Erhebungen über die chemische Zusammensetzung der Moste und Weine des preußischen Weinbaugebietes, die sich indes alle, da es sich vornehmlich um Analysenresultate handelt, schwer referieren lassen oder auch weniger botanisches Interesse als chemisches bieten.

Der inhaltreiche Bericht schließt mit den Beobachtungen der meteorologischen Station. Aderhold (Proskau b. Oppeln).

Referate.

Wilfarth, H., Die Rolle der Bakterien in der Landwirtschaft. (Landwirtschaftsblatt für das Herzogtum Oldenburg. Jahrg. XLIII. 1895. No. 2.)

Verf. weist zunächst darauf hin, daß die Bakterien nicht nur immer, wie der Laie gewöhnlich annimmt, für den Menschen schädliche Eigenschaften besitzen (Krankheitserreger), sondern daß es eine große Zahl dieser Mikroorganismen giebt, welche eine überaus nützliche, ganz unentbehrliche Rolle im Haushalte der Natur spielen. Von größter Bedeutung sind viele Bakterienarten auch für die Landwirtschaft. „Ohne sie gäbe es keine Gare des Ackerbodens, und die Pflanzen würden nicht die nötigen stickstoffhaltigen Nährstoffe im Boden finden, ohne ihre Hilfe würde keine Milch normal säuern, wäre kein Käse zu machen und kein Sauerfutter zu erzeugen." Nach weiteren Beispielen von der nützlichen oder schädlichen Wirkung der Bakterien im Betriebe der Landwirtschaft bespricht der Verf. die Schnelligkeit ihrer Vermehrung und die Bedingungen ihres Absterbens.

Bei der Erörterung über die Ernährungsverhältnisse weist der Verf. darauf hin, daß auch Bakterien die Ursache des Verderbens der Butter sind, indem der in der Butter stets noch vorhandene Milchzucker den hier in Betracht kommenden Mikroorganismen als sehr geeignetes Nährmittel dient. Man erhöht deshalb die Haltbarkeit der Butter, wenn man durch wiederholtes Auskneten das Wasser, in dem der Milchzucker gelöst ist, entfernt. Dasselbe erreicht man durch genügendes Salzen der Butter.

Nachdem der Verf. dann die Beziehungen der Bakterien zur Luft und zur Temperatur besprochen hat, geht er auf eine Kritik der Desinfektionsmittel über, welche besonders geeignet sind, die Bakterien in ihrer Entwickelung und Verbreitung zu hindern, als da sind: Sublimatlösung, Karbolsäure, Kreolin, Lysol, schwefelige Säure, Borsäure und Flußsäure.

Im Folgenden behandelt der Autor einige spezielle, für die Landwirtschaft wichtige Bakterienarten. Er erörtert die Beziehungen der Nitromonas genannten Bakterienart zur Salpetersäurebildung sowohl im Boden wie im Stallmiste, gedenkt dann der in den Knöllchen der Leguminosen vorkommenden Bakterien und derjenigen, die nach Berthellot Stickstoff zu fixieren vermögen, ohne eine Symbiose mit höheren Pflanzen einzugehen.

Eine nicht zu unterschätzende Rolle spielen die Bakterien bei der tierischen Verdauung. Die Verdauung der Cellulose beruht auf der Thätigkeit dieser Mikroorganismen; aber auch an der Verarbeitung der Eiweißkörper nehmen sie teil, indem sie die letzteren peptonisieren. Der Verf. weist deshalb darauf hin, wie bedenklich es ist, desinfizierende Mittel den Nahrungsstoffen beizumengen, wie die sogen. Konservesalze. Ebenso warnt er vor dem Genusse des Saccharins.

Zum Schlusse bespricht der Autor die Beziehungen der Bakterien zur Milchwirtschaft. Auch dabei sind schädliche und nützliche Arten derselben zu unterscheiden. Wie rasch sich die Bakterien in der Milch vermehren können, geht daraus hervor, daß dieselbe schon einige Minuten nach dem Melken in 1 ccm etwa 60000 Keime enthält, nach 15 Stunden bei 15° schon 1 Million, in derselben Zeit bei 25° etwa 72 Millionen und bei 35° rund 165 Millionen. Daraus erklärt es sich, warum Milch bei geeigneter Temperatur so schnell säuert.

Als schädliche Bakterien nennt der Verf. diejenigen, welche die „blaue“ Milch, ebenso die schlechtriechende, fadenziehende und bittere Milch erzeugen.

Auch die Beschaffenheit des Rahms hängt von der Thätigkeit gewisser Bakterien ab. Desgleichen beruht das „Reifen“ des Käses auf Bakterienwirkung. Der pikante, gewissen Käsesorten eigentümliche Geschmack ist ebenso darauf zurückzuführen. Im Anschlusse daran empfiehlt der Verf. den Genossenschaftsmolkereien, die Magermilch nur im sterilisierten Zustande zurückzuliefern, weil sonst leicht Maul- und Klauenseuche verschleppt werden könnten, ehe ihr Vorhandensein in einem Stalle gemeldet ist. Wie im Stalle die schädliche Wirkung von Bakterien zu bekämpfen ist, dafür giebt der Verf. noch verschiedene Ratschläge. Bruhne (Halle).

Green, R., The influence of light on Diastase. (Annals of Botany. Vol. VIII. 1894. p. 370—373.)

Verf. setzte von der gleichen Diastaselösung den einen Teil dem Lichte aus, während er den andern verdunkelte, und verglich nach einiger Zeit die Wirkung, die diese beiden Lösungen auf Stärkekleister ausüben. Er fand, daß im direkten Sonnenlichte eine bedeutend schnellere Zerstörung der Diastase stattfindet, während bei Anwendung von elektrischem Bogenlichte das Entgegengesetzte der Fall war. Da nun aber die bei diesen Versuchen benutzten Glasgefäße einen großen Teil des violetten Spektralbezirkes absorbierten, wiederholte Verf. die Versuche in der Weise, daß er die Diastase entweder in Agarhäute oder in Quarzgefäße brachte. Er fand, daß dann auch das elektrische Licht einen stärker zersetzenden Einfluß auf die Diastase ausübt.

Verf. schließt aus seinen Versuchen, daß die zersetzende Wirkung des Lichtes auf den violetten Teil desselben beschränkt ist, während das Licht von anderen Farben für die Diastase eher etwas günstiger ist als Dunkelheit.

Ein weiterer Versuch zeigte schließlich noch, daß der in den Gerstenpilzen enthaltene Farbstoff die Diastase vor der zersetzenden Wirkung des Lichtes schützt. Zimmermann (Tübingen).

Moller, F. J., Neuerungen im Verfahren zur Erzeugung von Kunsthefe. (Oesterr.-Ungar. Zeitschrift für Zuckerindustrie u. Landwirtschaft. 1894. Heft IV. p. 569.)

Verf. will das bis dahin in den Brennereien und Preßhefefabriken übliche Verfahren der Säuerung zur Herstellung der Kunsthefe ersetzen durch ein neues Verfahren, welches wohl eine Hemmung im Wachstume der Spaltpilze, wie Buttersäurebakterien, Essigpilz und aller anderen Arten wilder Hefen und somit Vermeidung schädlicher Nebengärungen gewährleistet, ohne die mancherlei Mißstände mit sich zu bringen, die mit einer Milchsäuregärung des Hefegutes immer verknüpft sind, wie Betriebsunsicherheit, Materialverlust etc.

Verf. stützt seine neue Methode auf die Eigenschaft des elektrischen Stromes, die Lebensthätigkeit tierischer und pflanzlicher Organismen je nach Stärke und Spannung zu- oder abträglich zu beeinflussen. Das gleiche Verhältnis, jedoch in großer Abhängigkeit von der Stärke der Ströme, besteht nach seinen Versuchen bei Mikroben. Während z. B. Sproßpilzen gewisse Ströme zu Wachstum und Gärthätigkeit zuträglich sind, werden die Spaltpilze schon bei Einwirkung dieser Ströme außer Thätigkeit gesetzt. Sowohl Sproßpilze als auch Spaltpilze zeigen für sich untereinander wieder ein verschiedenes Widerstandsvermögen gegen Ströme derselben Stärke, und zwar so, daß in Kulturen verschiedener Mikroben bei Einwirkung eines Stromes von bestimmter Stärke nur eine Gattung lebensfähig bleiben wird, während die anderen mehr oder weniger unterdrückt werden. Hierdurch ist es möglich, Reinkulturen irgend welcher Mikrobenart vor dem Degenerieren, bezw. vor Verunreinigung durch andere Mikroben zu schützen.

Man erhält so im praktischen Betriebe, wo nur die Arten von

Sacch. cerev. in Betracht kommen, dieselben nicht nur rein von Spaltpilzen, sondern man kann auch die am meisten entsprechende Hefenart dauernd erhalten und vor dem Degenerieren schützen, da im Laufe des Betriebes immer wieder derselbe gleich starke Strom zur Einwirkung kommt.

Den Maischprozeß der Brennereien gestaltet das neue Verfahren folgendermaßen: Die Maische wird nach dem Verzuckerungsprozesse direkt auf Anstelltemperatur von 18—15 ° C gekühlt unter gleichzeitiger Einwirkung eines elektrischen Stromes bis zur Stärke von 5 Ampère je nach der Konzentration der Maische. Vorteilhaft ist die Verwendung von Aluminiumplatten als Anoden wegen ihrer Leichtigkeit und des günstigen Einflusses, den nach Märcker Aluminiumsalze auf die Ernährung der Hefe ausüben. Die vom letzten Gärungsprozeß aufbewahrte Mutterhefe wird in einem Metallgefäße in den positiven Stromkreis eingeschlossen und mit einem für die bestimmte Hefenart passenden Strome elektrisiert. Im allgemeinen ca. 15 Min. lang mit 5 Ampère, bis alle etwa in die Hefe gelangten Fermente abgetötet sind. Die reine Hefe wird dann mit der gekühlten Maische vorgestellt und während der rapide eintretenden Hefevermehrung noch weiter mit demselben positiven Strome behandelt. Hierdurch wird eine große Menge reiner und kräftiger Hefe erzeugt, welche, der übrigen Maische zugesetzt, sofort in derselben eine Gärung in ihrem Sinne erzeugt und sich weiter rapide vermehrt.

Bei seinen Versuchen, die mit mehreren Hefen angestellt wurden und deren Anordnung aus der Originalarbeit zu ersehen ist, verwandte Verf. als Stromerzeuger Trockenelemente nach Leclanché und Chromsäureelemente, zur Messung ein Siemens'sches Torsionsgalvanometer. Die Stromstärke betrug 2—5 Ampère.

Die durch das neue Verfahren erreichbaren Vorteile werden folgendermaßen zusammengefaßt:

1) Der Brennereiprozeß wird um die ganze Zeit abgekürzt, die die Säuerung in Anspruch genommen.

2) Es treten weniger Verluste an Material ein, wodurch eine Mehrausbeute von mindestens 5 Proz. erzielt wird.

3) Vollständig normal verlaufende Gärung ohne Schaumbildung.

4) Erzielen einer reinen Hefe, welche zum größten Teile nur Zellen von der gewünschten Form enthält.

5) Durch die Entwickelung des Sauerstoffes an der Anode wird die Vermehrung der Hefe günstig beeinflußt und das Lüften entbehrlich gemacht.

6) Abtreiben eines reinen, nicht durch Fuselöle verunreinigten Alkohols, der folglich höher im Werte steht. Haefcke (Berlin).

Trabut, L., Sur une Ustilaginée parasite de la Betterave (Entyloma leproideum). (Compt. rend. CXVIII. 1894. p. 1288.)

Die Rüben eines Versuchsfeldes der landwirtschaftlichen Schule zu Rouiba zeigten seit Anfang Mai an der Ursprungsstelle der erst abgeernteten Blätter Nodositäten, die zuweilen die Größe einer Faust, und wenn sie zu mehreren an einer Pflanze auftraten, den dritten

Teil des Gesamtgewichtes des Rübenkörpers erreichten. Durchschneidet man ein solches krebsartiges Gebilde, so nimmt man ein wässeriges Parenchym wahr, das von Gefäßbündeln durchzogen ist und von zahlreichen braunen Punkten durchsetzt erscheint, die sich bei lupischer Betrachtung als Sporenanhäufungen zu erkennen geben. Die Sporen besitzen einen Durchmesser von 35 μ, haben also eine bedeutende Größe, sind rundlich und stark verdickt.

Diese Ustilaginee scheint sich nicht viel von Entyloma zu entfernen; doch kann die endgiltige Diagnose derselben erst nach eingehenden Untersuchungen gegeben werden.

Vorläufig wird sie Entyloma leproideum genannt.

Die Verdickungen sind mittels eines Stieles angeheftet und es läßt sich leicht konstatieren, daß dieselben auf Kosten eines Blattes oder eines ganzen Sprosses gebildet sind.

Vorläufig hat sich der Pilz nur auf Rüben gezeigt, welche zur vollen Ausbildung gelangt sind. Ob er bei Genuß der befallenen Rüben Vergiftungserscheinungen hervorruft, will Verf. durch Versuche feststellen. — Es ist wahrscheinlich, daß Entyloma leproideum auf der wilden Rübe, welche in Algier überall vorkommt, spontan lebt, ohne bisher die Aufmerksamkeit der Mykologen auf sich gezogen zu haben. L. Hiltner (Tharand).

Sorauer, Paul, Die bakteriose Gummosis der Zuckerrüben. (Blätter für Zuckerrübenbau. 1894. p. 9.)

Diese Krankheit wurde vom Verf. im Jahre 1890 zuerst an kranken Rüben aus Vukovár (Slavonien) beobachtet. Dieselben zeigten am unteren Ende eine Schwarzfärbung, die sich allmählich im Laboratorium über den übrigen Rübenkörper ausdehnte. Auf den stark erkrankten Rüben zeigte sich auch an der unverletzten Oberfläche ein durch Hervorquellen gummiartiger Flüssigkeit entstandener, schwach lackartiger Ueberzug. In diesem wurden zahlreiche Bakterien, Hefen und Mycelpilze gefunden, die schließlich alle von Penicillium glaucum überwuchert wurden. Eine gummiartige Flüssigkeit zeigte sich auch in kleinen Tröpfchen beim Durchschneiden frischer Rüben an einzelnen Punkten des gebräunten Gefäßbündelkörpers. Je nach dem Grade der Erkrankung ging die Schwarzfärbung der Gefäßbündel auch auf das umgebende Parenchym über und es trat dann aus demselben ebenfalls Flüssigkeit in Tropfenform oder nur feuchtende, in kurzer Zeit von sprossenden Hefezellen und Bakterien wimmelnde Flächen bildend hervor. Die Bakterien waren Kurzstäbchen, die bisweilen reihenweise verbunden waren, Doppelkokken und Mikrokokken.

Teilweise trat die hell erstarrende Flüssigkeit aus Gewebslücken hervor, die durch vollständige Lösung des gesamten Gewebes einschließlich der Gefäße entstanden waren.

1893 wurde die Krankheit mit denselben Symptomen auch in Deutschland, und zwar in den eigentlichen Rübengegenden an den Zückerrüben beobachtet. Die Gefäßbündelringe sind geschwärzt. Schneidet man hier an, so tritt ein anfangs heller, alsbald sich schwärzender Flüssigkeitstropfen aus, der sich vor dem Eintrocknen etwas ausbreitet. Das Fleisch zwischen den Gefäßsträngen ist fast

farblos und ist nur in den oberen Regionen etwas nachgedunkelt. Mitunter ist auch die Färbung eine umgekehrte, insofern die Gefäßstränge noch vorherrschend hell sind, die Parenchymzonen zwischen denselben dagegen tief geschwärzt.

Verf. glaubt es in der bakteriosen Gummosis mit einer unter Auftreten von Bakterien sich zeigenden Konstitutionskrankheit der Rübe zu thun zu haben, welche an eine individuelle oder vielleicht bereits gewissen Rassen und Zuchtstämmen eigene Disposition gebunden ist. Dieselbe dürfte wahrscheinlich mit unseren Kulturverhältnissen in Verbindung zu bringen sein. Haefcke (Berlin).

Maul, R., Ueber Sklerotinienbildung in Alnusfrüchten. (Hedwigia. Bd. XXXIII. 1894. Heft 4. p. 215—227. Mit 2 Taf.)

Nach einigen einleitenden Bemerkungen allgemeiner Art schildert Verf. in seiner im Erlanger Botanischen Institute ausgeführten Arbeit die schon von Woronin erwähnten Alnussklerotien und knüpft daran den Bericht über einige mit verschiedenalterigem Materiale aufgestellte Keimungsversuche.

Die von dem Sklerotium bewohnten Nüßchen unterscheiden sich äußerlich wenig von gesunden; sie sind etwas deformiert und verfärbt, besitzen jedoch eine beträchtliche Größe; innerlieh füllt der Pilz sie ganz aus, so daß nur noch das umschließende Pericarp vorhanden ist. In anderen Teilen des reifen Fruchtstandes (Stiel, Deckschuppen) sind Pilzelemente nicht nachweisbar, und die Thatsache, daß diese normal ausgebildet waren, spricht für die ausschließliche Infektion der Früchte, wo der Parasit schon frühzeitig — vor Ausbildung des Samens — sich einzufinden scheint [1]).

Das Sklerotium wird von fast gleichmäßigem Mycel gebildet, läßt also eine Unterscheidung seiner einzelnen Teile in Mark und Rinde kaum zu; die harte Fruchtschale bildet eine natürliche Hülle. Die konstituierenden Hyphen sind septiert, vielfach verzweigt, nach allen Richtungen dicht mit einander verflochten, und geben die für Pilzfäden überhaupt charakteristischen mikrochemischen Reaktionen. Scheinbar verlaufen sie ausschließlich intercellular, doch steht dies dahin, da Verf. nur reifes Material zur Untersuchung vorlag.

Die im Herbste und Frühjahre mit kürzlich gereiftem, wie 1—2-jährigem Materiale angestellten Keimungsversuche durch Aussaat auf feuchten Sand erwiesen zunächst, daß die letzteren älteren Gebilde sich überhaupt nicht veränderten und nur die diesjährigen durch alsbaldige Anschwellung ihre noch vorhandene Lebensfähigkeit dokumentierten; der Vorgang fand bei der Frühjahrsaussaat — also bei schon etwas älterem Materiale — langsamer statt.

Weitere Veränderungen in der von gewissen anderen Sklerotien bekannten Weise blieben jedoch aus, das heißt, es kam nirgends zur Bildung fruchtartiger Organe, wie wir sie von Claviceps, Peziza, Fuckeliana, einigen Basidiomyceten etc. kennen und auch innerlich vollzogen sich keine dahingehörigen Veränderungen.

---

1) Ein entwickelungsgeschichtlicher Erfolg scheint hier zwecks Ausschlusses anderer Möglichkeiten sehr am Platze.

Dahingegen bedeckten sich dieselben mehrfach stellenweise mit einem grünen Schimmel, welcher nach Angabe und Meinung des Verf.'s aus dem Innern derselben hervorbrach und wiederholt auf allen Exemplaren beobachtet wurde. Derselbe spricht somit diese penicilliumartigen Konidienträger als in den Entwickelungsgang des Pilzes gehörig an und zieht den bekannten analogen Vorgang bei Sklerotinia Fuckeliana zum Vergleiche heran.

Für die Meinung des Verf.'s spricht allerdings die durch Zeichnung erläuterte Angabe des Hervorwachsens aus dem inneren Gewebe des Sklerotiums und auch die angebliche Reinheit der Schimmelvegetation, obschon sich dagegen die erhebliche Differenz im Hyphendurchmesser (zwischen Markhyphen und Konidienträgern) geltend machen ließe, und überdies gerade derartige Konidienträgerformen von außerordentlicher Verbreitung auf Vegetabilien (altem Holz, Rinde, Blattresten, Früchten von Waldbäumen, schimmelndem Mutterkorn u. a.) sind. Letzteres spricht allerdings nicht unbedingt gegen jene Annahme. Weitergehende Kulturversuche hat Verf. jedoch nicht gemacht, obschon die Konidien in Nährlösungen zarte, reich verzweigte, junge Mycelien bildeten. Es bliebe also noch der Beweis für Zusammengehörigkeit der beiden Formen durch direkte Infektionsversuche.

Die „Fruchthyphen" — Verf. schließt sich mehrfach der nicht immer glücklichen, besonders in Tavel's „Morphologie" zum Ausdrucke kommenden neueren Terminologie an; also richtiger die Konidienträger, denn die Konidien sind keine „Früchte", und derartige Bezeichnungen wirken nur verwirrend — bilden aufrechte, septierte und reich verzweigte Fäden, deren obere Aeste wirtelförmig angeordnet sind und reichlich ovale Konidien abschnüren, welche sich häufig zu größeren Massen zusammenballen. Eine Bestimmung dieser Form hat Verf. nicht unternommen, doch liegt hiernach, wie insbesondere auch nach den gegebenen Abbildungen kein Penicillium, sondern voraussichtlich eine Verticillium-Species vor, welche, wie bereits erwähnt, auf älteren dürren Pflanzenteilen sehr gewöhnlich sind und möglicherweise ja auch als Gewebsparasiten auftreten können. Die Thatsache der Zusammengehörigkeit des Verticillium mit jenem Sklerotium wäre übrigens an sich nicht gerade befremdend, zumal anderweitige Fortpflanzungsorgane der Dauerform bisher nicht bekannt sind, solche aber in Hinblick auf die nicht unergiebige Ausbreitung des Pilzes notwendigerweise vorhanden sein müssen. Es früge sich aber immerhin, ob solche nicht bereits vor Ausbildung des Sklerotiums in dieser oder jener Weise zur Ausbildung kommen, und eine die Entwickelung ab ovo berücksichtigende Untersuchung wäre jedenfalls dankenswert.

Die mannigfachen theoretischen Erörterungen des Verf.'s sollen hier übergangen werden; über die dabei in Frage kommenden Verhältnisse (Konidien- oder Ascusbildung aus den Sklerotien) liegen bereits so manche rein abstrakte und nicht immer von Einseitigkeit freie Darlegungen vor, daß sie der „Wissenschaft" einstweilen genügen dürften und jedenfalls weitere experimentelle Untersuchungen förderlicher sind. Warum nicht gegebenenfalls unter entsprechen-

den Bedingungen die entwickelungsfähigen Hyphen eines Sklerotiums zu Mycelien oder Konidienträgern auswachsen sollen, dafür ist wirklich kein Grund zu sehen und die Thatsache selbst wohl überhaupt kaum befremdend, so daß sie — wie auch anderes Hierhergehörige — einer breiteren theoretischen Ausspinnung füglich entbehren kann.

Rekapitulierend weist Verf. darauf hin, daß nach seinen Ermittelungen die Alnus-Sklerotien also nur im Fruchtknoten gebildet werden und sich wahrscheinlich nur durch Konidien vermehren; demnach läge nach demselben hier der bis jetzt noch nicht vorgekommene Fall vor, „daß ein sklerotienbildender Pilz seine vegetativen und „fruktifikativen“ Formen auf demselben Wirte ohne Wechsel der Lebensweise und ohne Reproduktion weiterer Fruchtformen verbringt“; Verf. übersieht bei seiner Betrachtungsweise scheinbar u. a. die sklerotienbildenden pathogenen Aspergilleen.

Jedenfalls haben wir aber hier einmal wieder eine Pilzform vor uns, deren Sklerotien nach dem bisherigen eine Weiterentwickelung zur Ascus- oder Basidienfrucht mangelt, und es darf bei dieser Gelegenheit vielleicht daran erinnert werden, daß die Entstehung dieser in der Mehrzahl der Fälle — gleichwie die der Konidien — überhaupt nicht an die Gegenwart von Sklerotien gebunden, in vereinzelten Fällen allerdings auch dieser Vorgang nicht ausgeschlossen ist. Die bezüglichen Brefeld'schen Anschauungen dürfen wohl als bereits durch die Zeit überholt betrachtet werden.

Erläuternd giebt Verf. seiner Arbeit zwei anschauliche Tafeln bei.

Wehmer (Hannover).

Viala, P. et Ravaz, L., Sur les périthèces du Rot blanc de la Vigne. (Compt. rend. CXIX. 1894. p. 443.)

Von dem Pilz, welcher Rot blanc verursacht, waren bisher nur die Pykniden (Coniothyrium diplodiella) bekannt. Perithecien aufzufinden, ist den Verff. erst 1893 gelungen, nachdem sie bereits seit 8 Jahren vergeblich nach denselben gesucht hatten.

Die Perithecien bilden sich, wenn man Traubenkörner, Stielchen oder Zweige, also harte Organe, welche stark von Rot blanc befallen sind, in einer feuchten Kammer mit einem Ende in sterilisierten Sand steckt, den man allmählich trocken werden läßt, während man gleichzeitig ganz allmählich die Temperatur erniedrigt. Bei konstanter Feuchtigkeit und Wärme entstehen stets nur Pykniden; ebenso auf weichen Organen, wie den Trauben. Die Ascusfrüchte des Rot blanc sind rund, tiefschwarz, warzig und besitzen eine weite, kraterförmige Mundöffnung. Asci und Paraphysen entstehen nur auf der Basis der Perithecien. Die Paraphysen sind fadenförmig, $^1/_3$ länger als die Asci. Letztere, 56 μ lang, 8,5 μ breit, sind feingestielt und wenig zahlreich zwischen die pinselförmigen Paraphysen eingefügt. Die Sporen (15 μ auf 3,75 μ) sind spindelförmig, hyalin oder hellcitronengelb, in der Mitte stark zusammengeschnürt und durch eine Scheidewand quergeteilt, die ebenso dick wie die Sporenwand ist. In ein und demselben Ascus findet man oft auch Sporen, bei denen jede der Sporenhälften noch eine (dünne) Scheidewand besitzt.

Nach diesen Merkmalen stellen Verf. diese Perithecien zu der Gruppe der Sphaeriaceae-Hyalodidymeae als neue Gattung: Charrinia. Der spezifische Name des Rot blanc wird daher in der Folge Charrinia diplodiella sein.

L. Hiltner (Tharand).

Prillieux et **Delacroix**, Maladies bacillaires de divers végétaux. (Compt. rend. CXVIII. 1894. p. 668.)

Im Jahre 1890 beschrieben die Verff. als Ursache der Stengelfäule der Kartoffeln und Pelargonien eine Bakterienart, welche sie Bacillus caulivorus nannten. Diesen Bacillus haben sie seitdem auch an verschiedenen anderen Pflanzen als Krankheitserreger wahrgenommen. Bei großblumigen Clematisarten wird der Stengel von denselben am Wurzelhalse angegriffen, wodurch die Pflanzen nur mehr kümmerlich wachsen und bald ganz eingehen. Bei Begoniaarten, besonders bei B. Rex, tritt in den Vermehrungshäusern häufig die Erscheinung auf, daß die Blattstiele weich werden und infolgedessen die Blätter selbst zunächst in schmalen, geschlängelten Linien und schließlich durch die beständige Vermehrung der letzteren in ihrer ganzen Ausdehnung vertrocknen. Eine ähnliche Krankheit zeigen auch die Gloxinien.

In allen diesen Fällen besitzt der parasitische Bacillus denselben Charakter. Er ist $1^1/_2$ μ lang, $^1/_2$—$^1/_3$ μ breit und färbt das Nährmedium (Kalbsbouillon oder Gelatine) in scharf ausgeprägter Weise urangrün.

Im nördlichen Frankreich hat man eine Krankheit der Weintrauben beobachtet, bei welcher die Traubenkämme sich vergrößernde Flecken von hellgelber Farbe erhalten, die schließlich ein Absterben der Kämme und damit ein Vertrocknen der Beeren bedingen. Erscheint die Krankheit zeitig, so gelangt keine Traube zur Reife. In den den Flecken benachbarten Zellen nimmt man sich bewegende Stäbchen wahr von 1,25 μ Länge und 0,75 μ Breite. Die Reinkulturen derselben ähneln jenen des Bac. cauliv. nur ist die grüne Farbe des Nährmediums weniger ausgeprägt; trotzdem erscheint die Identität der beiden Bakterienformen als ziemlich wahrscheinlich.

Größere Abweichungen von Bac. caul. in ihren Eigenschaften zeigen Bakterien, welche die Stielchen der Blätter und Blüten von Cyclamen persicum zum Verwelken bringen. Dieselben bilden kurze, sehr bewegliche Stäbchen, die bei der Kultur bald Ketten erzeugen und nach Verlauf mehrerer Monate zur Sporenbildung gelangen. Die Kulturen nehmen keine grünliche Färbung an. — Die sogenannte Mosaikkrankheit des Tabaks tritt im südwestlichen Frankreich allgemein in einer Form auf, die man als Brand (Nielle) bezeichnet und die sich durch das Erscheinen begrenzter graugelber Flecken an den Rändern der Blätter charakterisiert. Der aus den Zellen dieser Flecken isolierte Bacillus ist etwas kleiner und weniger beweglich als der bei Cyclamen vorgefundene, erzeugt aber ebenfalls Ketten; Sporenbildung wurde nicht beobachtet. Das Kulturmedium färbt sich gelb.

Eigentümliche Beschädigungen an Tomaten, die verschiedenen Gegenden entstammten, konnten die Verff. gleichfalls auf die Wirkung

von Bakterien zurückführen. Die sich entwickelnden Früchte bräunen sich und verfaulen in ihrem oberen Teile. Die Infektion scheint durch den Griffel der Blüten zu erfolgen, doch ließ sich die Krankheit künstlich nur durch Einstiche in die jungen Früchte hervorrufen. Die verursachenden Bakterien, $^2/_3$—1 μ lang, $^1/_2$—$^2/_3$ μ breit, bilden dichte Zooglöen, aber keine Ketten. Sie sind wenig beweglich und färben das Kulturmedium schwach grünlich.

In den braunen Flecken auf der Oberfläche von Knollen der Schwerteln (Gladiolus) fanden sich kurze, sehr bewegliche Bacillen, welche das Kulturmedium nicht färben.

Ueber eine gummose Krankheit des Weinstockes, die von den Verff. gleichfalls auf Bakterienwirkung zurückgeführt wird, bringen dieselben in einem besonderen Berichte ausführliche Mitteilungen. (Vergl. unten.)

Aepfel verschiedener Varietäten zeigen oft beim Durchschneiden mitten im Gewebe Flecken, welche durchscheinend erscheinen und deren Zellen schließlich absterben. Man findet in denselben sehr kurze Stäbchen, welche die Bouillon nicht färben.

L. Hiltner (Tharand).

Prillieux et **Delacroix**, La gommose bacillaire des Vignes. (Compt. rend. CXVIII. 1894. p. 1430.)

Mangin, Louis, Sur la présence de thylles gommeuses dans la Vigne. (Ibid. CXIX. p. 514.)

Daille, L., Observations relatives à une Note de MM. Prillieux et Delacroix: Sur la gommose bacillaire des Vignes. (Ibid. CXIX. p. 751.)

Bereits seit längerer Zeit kennt man in Italien als sog. mal nero eine Krankheit des Weinstockes, die namentlich in Sicilien und Calabrien beträchtliche Verluste verursacht. Die bisherigen Untersuchungen italienischer Forscher führten allgemein zu dem Ergebnisse, daß es sich um eine Bakterienkrankheit handle. — Aus Tunis erhielten Prillieux und Delacroix schon vor Jahresfrist erkrankte Pflanzen, die Erscheinungen zeigten, wie sie sich beim mal nero finden. Aber auch in Frankreich selbst ist dieselbe Krankheit in verschiedenen Departements ziemlich häufig und unter den Namen Aubernage oder Roncet bekannt. Die von derselben befallenen Stöcke verkrüppeln; die jungen Zweige nehmen nicht ihre normale Entwickelung, die grünbleibenden Blätter deformieren. Auf einem Querschnitte erkrankter Stämme erscheint das Holz schwarz gesprenkelt. In dem Maße, als das Uebel fortschreitet, werden die zunächst kleinen Punkte größer und zahlreicher, bis sie schließlich zu Flecken zusammenfließen und dem Holze eine dunkelbraune Farbe verleihen. Wie es schon beim mal nero beobachtet wurde, schreitet die Erkrankung von der Spitze gegen die Basis der Pflanzen vor und beginnt gewöhnlich an Wunden. Sie endet mit dem Tode des Stockes nach Verlauf von 3—5 Jahren.

Die mikroskopische Untersuchung derartig veränderter Stellen des Holzes läßt erkennen, daß alle Elemente der Gefäße und besonders des Holzparenchyms mit einem braunen Gummi erfüllt sind, in

welchem sich Myriarden von Bakterien finden. Kulturen der letzteren in Kalbsbouillon geben eine Leptothrix, deren Glieder nach der Trennung aus schmalen, beweglichen, 0,75—1,25 μ langen Stäbchen bestehen. Ein bereits im Vorjahre mit Reinkulturen dieser Bakterien infizierter Weinstock zeigte zur Zeit der Veröffentlichung Alterationen des Blattwerkes, wie sie für die Aubernage charakteristisch sind, und das Holz erwies sich als befallen von gummoser Degeneration.

Haben sich die Bakterien seit einiger Zeit in den Pflanzen entwickelt und die Gewebe bereits stark zersetzt, so finden verschiedene Saprophyten günstige Ernährungsbedingungen. Das Mycel derselben dringt in die kranken Gewebe ein und beschleunigt die vollständige Zerstörung derselben. In manchen Fällen wird dadurch das primäre Uebel vollständig verdeckt und es erklärt sich, warum man die in Frankreich beobachteten Fälle bisher meist der Wirkung gewisser Pilze zuschrieb. Daille hat z. B. Torula antennata Pers., welche auf von der Aubernage befallenen Stöcken in Form kleiner, schwarzer, sammetartiger Flecken auftritt, als Ursache dieser Krankheit beschrieben, außerdem auch den Pilz nicht richtig erkannt und ihm den Namen Uredo viticida gegeben. Andere derartige Saprophyten sind Hypholoma fasciculare, ein Coniothecium, Sphaeropsis viticola Passer., Pestalozzia sarmenti Pass. und eine Pestalozzia-Art, welche nicht von P. pezizoides de Not. verschieden erscheint.

Nachdem die Verff. auch Gelegenheit hatten, ein aus Italien stammendes Stück eines von mal nero befallenen Weinstockes näher zu untersuchen, glauben sie die Identität dieser Krankheit mit der gommose bacillaire als gesichert annehmen zu dürfen.

Mangin, der mit eingehenden Studien über die Bildung des Pflanzenschleimes und des Gummis beschäftigt ist, hat auch den Weinstock in den Kreis seiner Untersuchungen gezogen und hält nach den an gesunden und kranken Reben gemachten Beobachtungen die Existenz einer bacillären Gummose für sehr problematisch.

Behufs mikroskopischer Prüfung koaguliert Verf. die Gummiausscheidungen der Zellen mit dreibasisch essigsaurem Blei und färbt sie dann mit Rutheniumrot. Derartig vorbereitete, in verschiedenen Richtungen durch den gesunden Stamm und Zweige des Weinstockes ausgeführte Schnitte lassen erkennen, daß manche Gefäße mehr oder minder entwickelte Thyllen besitzen, während andere, die sich viel zahlreicher finden, von Thyllen entblößt, dafür aber mit einem verschieden dichten Gummibelage ausgekleidet sind. Zuweilen erfüllt der Gummi das Gefäß vollständig, so daß die so oft beobachteten gummosen Ausscheidungen nach Verwundungen gesunder Stöcke sich leicht erklären lassen. Bakterienwirkung ist bei Bildung dieses Gummis nicht im Spiele, vielmehr handelt es sich dabei um einen ganz normalen Vorgang; denn es läßt sich an einem und demselben Schnitte feststellen, daß der Gummi nicht ein Produkt der Gefäßwandungen ist, vielmehr gleichwie die Thyllen den Nachbarzellen entstammt und gewissermaßen aus gummos gewordenen Thyllen besteht.

Die Untersuchung kranker Reben offenbart eine wichtige Besonderheit: Die gummosen Thyllen sind bei denselben viel seltener als die normalen. Letztere sind in den Gefäßen gebräunter Teile des Holzes sogar so häufig, daß sie, indem sie sich gegenseitig berühren, innerhalb der Gefäße ein diese vollständig ausfüllendes Parenchym bilden. In den Zwischenräumen des letzteren findet sich neben Resten protoplasmatischer Natur brauner Gummi. Bakterien waren in den vom Verf. untersuchten Proben nicht wahrzunehmen, ausgenommen in der Nähe solcher Stellen, die offenbar allen möglichen Keimen zugänglich waren.

Gummose Entartung wurde in keinem Falle beobachtet.

Daille, dem von Prillieux Zeichnungen der Torula antennata übersandt wurden, schließt aus diesen, daß es sich nicht um den Organismus handelt, welchen er seiner Zeit als Uredo viticida beschrieben. L. Hiltner (Tharand).

Prillieux et Delacroix, La brûlure des feuilles de la Vigne produite par l'Exobasidium Vitis. (Compt. rend. CXIX. 1894. p. 106.)

Viala, P. et Boyer, G., Sur l'Aureobasidium Vitis, parasite de la Vigne. (Ibid. p. 248.)

Eloste, P., Sur une maladie de la Vigne, déterminée par l'Aureobasidium Vitis. (Ibid. p. 517.)

Aus verschiedenen Gegenden Frankreichs erhielten Prillieux und Delacroix Weinblätter, welche Erscheinungen aufwiesen, die als Rougeot oder Brûlure (Rotbrenner) bezeichnet werden. Auf den getöteten Teilen der fahlen, mit purpurroten Flecken bedeckten Blätter nimmt man einen weißen, gyps- oder kreideartigen Staub wahr, der aus den massenhaften Sporen eines aus dem Innern der Blätter hervorbrechenden Parasiten besteht. Der Pilz scheint nicht verschieden zu sein von jenem, welchen Viala und Boyer 1891 auf den Beeren des Weinstockes beobachteten und als Aureobasidium Vitis beschrieben.

Das gewöhnlich mit Scheidewänden versehene Mycel ist gelblich, nur die letzten Verzweigungen sind hyalin. Wo es die Epidermis durchsetzt, bildet es Büschel von Fäden, von denen die einen steril bleiben und sich auf der Oberfläche des Blattes ausbreiten, während andere sich keulenförmig erweitern und zu Basidien werden, welche an der Spitze von sehr kurzen Sterigmen eine wechselnde Zahl von Sporen erzeugen. Meist endigt die Basidie den Mycelfaden, sie kann sich jedoch auch seitlich an der Spitze einer kurzen Verzweigung bilden, während der Hauptfaden steril bleibt und sich verlängert. Basidien können auch an der Spitze dünner, wenig geteilter Fäden entstehen, andererseits findet man dicke, von kurzen Elementen gebildete Fäden von toruloidem Aussehen, welche oft steril sind, aber in gewissen Fällen laterale, basidientragende Zweige bilden.

Die stets hyalinen Basidien tragen 2—9 gleichfalls hyaline, einzellige, eiförmige oder cylindrische, meist gerade Sporen, die sich an beiden Enden etwas verjüngen; die Sporen sind 12—16 μ lang und 4—6 μ breit. Bei der Keimung bilden sie an jedem Pole eine, seltener zwei Knospen nach Art der Hefen.

Verff. können keinen wesentlichen Grund finden, der berechtigte, diese Species von der Gattung Exobasidium zu trennen. Wenn sie sich von derselben auch etwas entfernt durch die Unregelmäßigkeit in der Form der Basidien und die fast sitzenden Sporen, so nähert sie sich andererseits wieder durch die beträchtliche und zugleich variable Zahl der Sporen und durch die Art der Sporenkeimung, welche stark abweicht von jener der Hypochneen, zu welchen Viala und Boyer ihre Gattung Aureobasidium gestellt haben, und bei welchen außerdem die Basidien regulär sind und zwei oder vier Sterigmen tragen. Der Parasit ist also besser als Exobasidium Vitis zu bezeichnen. Die Verluste, welche er an den Reben erzeugt, ließen sich zur Zeit der Veröffentlichung noch nicht genau feststellen; in Chiroubles soll er mehr Schaden angerichtet haben als ein Hagelschlag.

Viala und Boyer kennen Aureobasidium als Blattparasiten bereits seit 1891. Im Jahre 1894 erhielten sie aus Algier und verschiedenen Departements Frankreichs nicht nur Blätter, sondern auch Zweige der Rebe, welche von diesem Pilze befallen waren; immer aber erwiesen sich die durch ihn bedingen Verluste als unbedeutend. Durch Kupfersalze oder Mischungen von Schwefel und Kalk läßt sich überdies die Entwickelung der Krankheit hemmen. Der Name Brûlure oder Rougeot für die durch den Parasiten hervorgerufene Blattkrankheit ist unrichtig; denn die mit dem ersten Namen bezeichnete Erscheinung wird durch Botrytis cinerea, letztere durch vielerlei sehr verschiedene Ursachen hervorgerufen.

Die von Prillieux und Delacroix gegebene Beschreibung des Pilzes stimmt im wesentlichen mit den von den Verff. schon 1891 gemachten Angaben überein. Erstere haben nur zum ersten Male die Keimung der Sporen durch Knospung beobachtet.

Den Pilz zur Gattung Exobasidium zu stellen, halten Verff. für unzulässig; denn die Zahl der Sporen ist bei den Hypochneen auch variabel und gerade jene Eigentümlichkeiten, durch welche sich diese Gruppe überhaupt von den Exobasidieen unterscheidet, insbesondere der hautartig ausgebreitete, aus locker verwebten Hyphen bestehende Fruchtkörper, finden sich bei Aureobasidium.

Eloste hat die in Rede stehende Krankheit gleichfalls beobachtet (namentlich in der Umgegend von Montpellier) und giebt eine ausführliche Beschreibung der Symptome derselben und des veranlassenden Pilzes, ohne, wie es scheint, Kenntnis von den beiden vorher besprochenen Arbeiten zu haben. Aus seinen Mitteilungen geht hervor, daß Aureobasidium die Blätter und damit die ganze Pflanze doch weit mehr schädigt, als Viala und Boyer zugeben wollen. Wenn die Blätter bereits im April oder Anfang Mai befallen werden, so giebt es keine Trauben, bei späterem Auftreten fallen die Beeren ganz oder teilweise ab oder werden mindestens in der Entwickelung gehemmt; das Holz reift schlecht und fällt leicht dem Froste zum Opfer. An den Zweigen selbst war der Pilz nicht wahrzunehmen. Behandlung der Reben mit Bordelaiser Brühe bezw. Eisensulfat blieb erfolglos. L. Hiltner (Tharand).

Prunet, A., Sur une Chytridinée parasite de la Vigne. (Compt. rend. CXIX. 1894. p. 572.)

— —, Caractères extérieurs de la chytridiose de la Vigne. (Ibid. p. 808.)

Sind schon die Mitteilungen des Verf.'s über die von ihm beobachtete, durch eine Chytridinee verursachte Krankheit des Weizens geeignet, ein gewisses Aufsehen zu erregen, so gilt dies in noch weit höherem Grade von den beiden vorliegenden Aufsätzen, in denen nicht nur der Nachweis geführt wird, daß auch der Weinstock von einer Art dieser Schmarotzerpilze heimgesucht wird, sondern auch, was vielleicht an sich noch mehr Interesse darbietet, daß eine Reihe schon bekannter Krankheiten des Weinstockes, über deren Ursachen bisher einander vielfach widersprechende Angaben vorliegen, auf die Wirkung dieses Parasiten zurückgeführt werden müssen.

Die Zoosporen des in Frage stehenden Pilzes besitzen einen Durchmesser von 1,5—2,5 μ, sind rundlich und bewegen sich mit Hilfe einer ziemlich hinfälligen Cilie. Vor der Keimung ziehen die einen stark lichtbrechenden Oeltropfen enthaltenden Sporen die Cilie ein und umgeben sich mit einer Membran; ein von ihnen gebildeter feiner Faden durchdringt die Zellwand und erzeugt ein intracelluläres, sehr schwer zu sehendes Mycel, an dem die Initialen der Zoosporangien sich bilden. Dieselben stehen einzeln oder paarweise genähert; im letzteren Falle verkümmert eine der Anlagen. Je nachdem sie aus terminalen oder intercalaren Initialen hervorgehen, sind die Zoosporangien ovoid oder birnförmig, seltener besitzen sie eine polygonale Kontur. Die birnförmigen sind 10—40 μ lang, 3—15 μ breit; die übrigen besitzen einen Durchmesser von 5—20 μ. Stets sind sie umgeben von einer deutlichen Membran und enthalten ein granulöses Protoplasma und einen, seltener mehrere Oeltropfen.

Während im Innern durch simultane Teilung die Bildung der Zoosporen sich vollzieht, treibt das Zoosporangium einen geraden oder gebogenen, röhrenförmigen Hals, der sich schon in der Zelle öffnen kann, welche das Zoosporangium umschließt, meist aber die Zellwand durchsetzt und dadurch die Zoosporen in eine benachbarte Zelle entleert. Der Hals ist zuweilen auf eine kurze Papille reduziert. Von den Zoosporangien der Epidermiszellen aus gelangen die Sporen auch auf die Oberfläche der Pflanzenteile, auf welcher übrigens auch vollständig freie Sporangien sich finden können.

Unter gewissen Umständen bilden sich aus den Initialen nicht mehr Sporangien, sondern annähernd gleich große, braungefärbte Cysten, welche rundlich, seltener ovoid oder birnförmig sind und eine dicke Wandung besitzen. Nach einer Periode latenten Lebens von verschiedener Dauer erzeugen die Cysten Zoosporen.

Die Zoosporen scheinen sich auch direkt in Sporangien oder Cysten umwandeln zu können.

Ihren gesamten Eigenschaften nach ist diese Chytridinee zu der Gattung Cladochytrium de Nowakowski zu stellen, wo sie eine neue Species, Cl. viticolum, bildet.

Man findet den Schmarotzer in allen Organen und Geweben des

Weinstockes. Es kommt ziemlich häufig vor, daß alle lebenden Zellen, welche durch einen Querschnitt getroffen werden, ein Zoosporangium enthalten, oft auch 2, seltener 3, 4 oder mehrere. Besonders leicht ist der Pilz in den Markzellen nach Färbung mit Anilinblau oder Anilinbraun zu beobachten.

Cl. viticolum bildet die Ursache verschiedener mangelhaft bekannter Krankheiten des Weinstockes, welche beschrieben wurden unter den Namen: anthracnose ponctuée, a. déformante, gommose bacillaire, gélivure, roncet, brunissure, br. rougeole, maladie pectique, m. du coup de pouce. Außerdem sind dem Pilze viele Verfärbungen, gewisse Fälle von Chlorose und verschiedene Affektionen des geschlechtlichen Apparates zuzuschreiben. Endlich kann Verf. nach Proben, die er Briosi und Comes verdankt, konstatieren, daß Cl. viticolum auch der Parasit des mal nero ist.

Alle die verschiedenartigen Erscheinungen, welche der Pilz hervorruft, faßt Verf. unter dem Namen Chytridiose zusammen. Dieselbe konnte er konstatieren in Algier, Tunis und in 15 zufällig ausgewählten Departements Frankreichs.

Die Chytridiose ist ohne Zweifel keine neue Krankheit. Eine ihrer Formen wenigstens, roncet (welche von Prillieux auf Bakterienwirkung zurückgeführt wird. Der Ref.) ist schon längere Zeit in Frankreich bekannt. Reben von Riparia, die 1875 in der Nähe von St. Louis geerntet worden, erwiesen sich als chytridiös.

An den verschiedenen Organen charakterisiert sich die Chytridiose folgendermaßen:

1) Reben: Die Internodien sind entweder alle oder teilweise verkürzt; an der Oberfläche zeigen sich Punktierungen oder Flecke. Erstere sind kleine Hervorragungen mit braunem, schwarzem oder rötlichem Gipfel, die besonders am Grunde der Reben häufig auftreten. Die Flecken sind ebenso gefärbt und ragen oft etwas hervor, während sie in anderen Fällen im Gegenteil leicht eingedrückt erscheinen. Ihre Länge schwankt zwischen einigen Millimetern und mehreren Decimetern, die Breite zwischen weniger als 1 mm und dem ganzen Umfang des Zweiges. Sind sie zahlreich und sehr ausgebreitet in Regionen, welche im Wachstume begriffen sind, so können dieselben verkürzt, abnorm verdickt und mehr oder weniger gedreht werden. Flecken, welche den ganzen oberen Teil der Reben umfassen, führen zur Entblätterung und Vertrocknung. Endlich vermögen die Flecken zu wahren Spalten sich zu vertiefen, welche namentlich am unteren Teile der Reben bis in das Mark sich erstrecken können.

2) Blätter. a) Dieselben röten sich oder werden gelb und vertrocknen teilweise oder vollständig. Die Vertrocknung beginnt an der Peripherie oder zwischen den Hauptnerven.

b) Die grüne Farbe bleibt im allgemeinen, verblaßt aber am Rande und zwischen den Nerven. Die erbleichten Partieen können vertrocknen, oder es entstehen auf ihnen kleine, gelbe, rote oder braune Flecken von unregelmäßiger Form.

c) Das grün gebliebene Blatt trägt kleine, bestimmte Flecken von brauner, schwarzer oder rötlicher Farbe, die schließlich mehr

oder minder vertrocknen. Die Blätter behalten entweder ihre normalen Dimensionen oder werden kleiner. Sie können zusammenschrumpfen, sich becher- oder rinnenförmig in verschiedenen Richtungen aushöhlen. Tritt ein vorzeitiges Abfallen der Blätter ein, so können, namentlich wenn die Entblätterung der Reben vom Gipfel aus sich vollzieht, die oberen Teile sich abgliedern und abfallen.

3) Trauben. Auch auf den Trauben können alle jene Bildungen auftreten, welche auf Reben, Blättern und ebenso an den Blattstielen sich zeigen; ziemlich häufig schwärzen sie sich und fallen ab. Die Blüten können fehlschlagen und ebenso wie die jungen Beeren abfallen, indem sie sich schwärzen oder nicht. Die Beere können mehr oder weniger frühzeitig in der Entwickelung aufgehalten werden und grün bleiben; in anderen Fällen erhalten sie braune, etwas hervorragende Flecken etc.

Die Chytridiose ist ziemlich häufig der Vegetation und der Entwickelung des Weinstockes wenig schädlich. Wenn sie Verfärbungen der Blätter, Vertrocknung dor Trauben, Entblätterung der Reben hervorruft, trägt sie schon einen gefährlicheren Charakter; geradezu unheilvoll aber wird sie, wenn sie sich auf die ganze Pflanze erstreckt.

Unter allen den verschiedenen Symptomen, unter denen die Krankheit sich äußert, haben nur die Punktierungen wegen ihrer fast absoluten Konstanz eine gewisse diagnostische Bedeutung. Man hat sie hauptsächlich am Grunde der noch grünen Reben und auf den Traubenstielchen zu suchen. L. Hiltner (Tharand).

Prunet, A., Sur une nouvelle maladie du blé causée par une Chytridinée. (Compt. rend. T. CXIX. 1894. p. 108.)

In manchen Gegenden des südwestlichen Frankreich zeigte sich der Weizen im Sommer 1894 von einer außerordentlich schweren Krankheit befallen: Bei den Pflanzen trat in verschiedenen Entwickelungsstadien ein Stillstand des Wachstums ein, alsbald begannen zunächst die Blätter, schließlich die ganzen Halme zu vergilben und allmählich zu vertrocknen. Die kranken oder toten Halme bilden in den Feldern Flecken, die sich immer mehr vergrößern und oft beträchtliche Dimensionen annehmen können.

Als Ursache der Krankheit erkannte Verf. eine Chytridinee, über deren Organisation und Entwickelung er Folgendes ermittelte:

Die Zoosporen dringen durch die Wände der Epidermiszellen und bilden ein verzweigtes, intracellulares, aus rein protoplasmatischen Fäden von ungemeiner Feinheit bestehendes Mycelium. Diese Fäden schwellen an verschiedenen Stellen zu terminalen oder intercalaren, kernhaltigen Gebilden an, die zu Zoosporangien heranwachsen, indem sie sich bald mit einer feinen Membran umgeben und sich bedeutend vergrößern. Die Sporangien sind von ovoider oder birnförmiger Gestalt oder formen sich auch den Wänden der sie umschließenden Zelle an, welche sie dann vollständig ausfüllen. Bevor sie ihre endgltige Gestalt gewonnen haben, verschwindet gewöhnlich das begleitende Mycel. Die reif gewordenen Zoosporangien, deren Durchmesser

zwischen 15 und 50 μ schwankt, öffnen sich innerhalb der Zelle durch eine Oeffnung, die selten an die Spitze einer kurzen Papille gestellt ist. Sie entlassen die mit einer Cilie versehenen, einen lichtbrechenden Kern enthaltenden Zoosporen, deren Durchmesser ungefähr 3 μ beträgt. Sobald sich dieselben an eine Wand festgesetzt haben, ziehen sie die Cilie ein, umgeben sich mit einer Membran und erzeugen wieder ein verzweigtes Mycel, das eine wechselnde Zahl von Zoosporangien bildet. Ziemlich häufig tragen die letzteren an ihrer Basis ein kleines, protoplasmafreies Anhängsel, welches, wie es scheint, durch eine frühzeitige Zweiteilung entstanden ist.

Die Zoosporen können die Zellwände durchsetzen und in benachbarte Zellen eindringen, indem sie einen feinen Faden treiben, der durch Durchbohrung der Wand einen Gang bildet, durch welchen allmählich der ganze Inhalt der Spore nachfolgt, so daß in der früheren Zelle nur die feine Membran zurückbleibt. Die jungen Zoosporangien vermögen in derselben Weise zu wandern.

Es können auf diese Weise allmählich sämtliche Organe der Pflanze zerstört werden: Wurzel, Halm, Blätter und Blüten. Die Zahl von Zoosporangien, die in einer Zelle auftreten, vermehrt sich dabei immer mehr; in einer einzigen Zelle wurden beispielsweise 19 gezählt. Man begegnet ihnen in allen Gewebsarten, selbst in solchen mit sehr dicken Zellwandungen.

Die Gegenwart des Parasiten im Fruchtknoten verursacht einen mehr oder minder vollständigen Abortus. Die auf der Oberfläche der Tegumente vorkommenden Zoosporangien, bezw. deren Zoosporen dienen zur weiteren Verbreitung des Pilzes.

Bei Eintritt von Nahrungsmangel bilden sich braune Dauersporangien mit stark verdickten Wänden. Diese Cysten sind rundlich und gewöhnlich kleiner als die Zoosporangien; sie widerstehen der Trockenheit und Kälte und erhalten den Parasiten von einem Jahre zum anderen.

Nach der Natur des Myceliums und der Bildung der Zoosporangien gehört diese Chytridinee zum Tribus der Cladochytrieen; sie läßt sich jedoch in keine der bis jetzt bekannten vier Gattungen dieses Tribus einreihen, stellt also eine neue Gattung und Species dar, die Verf. Pyroctonum sphaericum nennt.

Unterliegt es auch keinem Zweifel, daß die häufigen Frühjahrsregen des Jahres 1894 die Entwickelung dieses Parasiten sehr begünstigten, so würde sich doch jedenfalls die Hoffnung als trügerisch erweisen, es könne die durch ihn bedingte Gefahr unter normalen Witterungsverhältnissen verschwinden. Verf. empfiehlt daher ein energisches Vorgehen gegen die neue Krankheit, insbesondere Verbrennen der befallenen Halme und Stoppeln und Vermeidung des Wiederanbaues von Weizen auf einem infizierten Felde; in verseuchten Gegenden wird man zweckmäßig auf den Gebrauch von Stallmist verzichten, da das Stroh der Streu Cysten des Pilzes enthalten kann, und nachdem das Vorkommen solcher auch auf den Körnern des geernteten Weizens nachgewiesen ist, wird es auch nötig sein, zur Aussaat Samen aus verschont gebliebenen Gegenden zu verwenden.

L. Hiltner (Tharand).

Fünfzehnte Denkschrift betreffend die Bekämpfung der Reblauskrankheit. Herausgegeben vom Reichskanzleramte. 1892. 62 p. Mit 11 Anlagen und 3 Kartenblättern. Berlin 1893.

Sechszehnte Denkschrift etc. 1893. 76 p. Mit 15 Anlagen und 3 Kartenblättern. Berlin 1894.

Nach den Mitteilungen über die Organisation der Reblausbekämpfung folgen übersichtliche Mitteilungen über den Stand der Reblauskrankheit im In- und Auslande, die durch die Anlagen eingehender begründet werden. Die Kosten der Reblausbekämpfung, welche von den Bundesregierungen bis Ende 1891, 92, 93 aufgewendet worden sind, waren bezüglich 3 424 212,74 M. (bis 1891), 3 972 719,76 M. (bis 1892), 4 537 637,66 M. (bis Ende 1893).

Der Stand der Reblausseuche im Deutschen Reiche ist in den Jahren 1892 und 1893 der folgende gewesen:

1) Preußen. Die Vernichtungsarbeiten hatten 1892 meist ein günstiges Ergebnis. Neu wurden gefunden auf rechtsrheinischem Gebiete 1892 12 neue Herde mit 667 kranken Reben (Hönningen allein mit 620 kranken Reben), 1893 3 neue Herde mit 95 kranken Stöcken. Auf dem linksrheinischen Gebiete wurden 1892 in nächster Nähe älterer Herde 20 kleine neue Herde aufgefunden, 1893 38 Herde mit 4109 infizierten Stöcken (meist in der Gemarkung Muffendorf bei Bonn). In der Provinz Hessen-Nassau fanden sich 1892 44 neue Herde mit 422 kranken Reben auf 516,58 a. 1893 hatte deren Revision ein günstiges Ergebnis, neu waren 16 Herde mit 81 kranken Reben hinzugekommen. In der Provinz Sachsen wurden 1862 118 Herde mit 1554 kranken Reben aufgefunden, es war Hoffnung vorhanden, die Seuche einengen zu können. Dieselbe hat sich aber 1893 nicht erfüllt, wo 227 neue Herde mit 13 447 kranken Reben auf 3,7808 ha aufgefunden wurden, darunter eine Hauptinfektion in der Gemarkung Lobitzsch (Kreis Weißenfels).

2) Im Königreich Sachsen war 1892 nur eine Neuinfektion mit 885 kranken Rebstöcken in der Gemarkung Oberwartha entdeckt worden. 1893 wurden aber in der Niederlößnitzer Flur 23 neue Herde mit 2171 kranken Stöcken, in der Oberlößnitzer Flur 15 neue Herde mit 390 kranken Stöcken und in der Gemarkung Hoflößnitz 3 Herde mit 56 kranken Reben aufgefunden.

3) Königreich Württemberg. Auf der stark verseuchten Gemarkung Neckarweihingen wurden 1892 12 neue Herde mit 51 kranken Reben (1 Herd auf der Markung Roggenweiler mit 44 kranken Reben), 1893 7 neue Herde mit 77 kranken Stöcken ermittelt. Bei der Durchführung umfassender Vernichtungsarbeiten wurden rund 30 500 Reben auf 3,0512 ha vernichtet.

4) Elsaß-Lothringen. 1893 wurden neue Herde (25 mit 790 kranken Reben) in den Gemarkungen Lutterbach, Pfastatt, Hegenheim, Rufach, Vallières und St. Julien entdeckt, in Vantoux wurden 2, in Ancy 1 befallener Stock ermittelt. In der Gemarkung Vallières und der angrenzenden Ecke von St. Julien (die Reblaus in 71 zerstreuten Parzellen mit 592 kranken Stöcken) sollten ev. die ganzen ergriffenen Flächen von 30,89 ha vernichtet werden. Neue

Herde wurden 1893 in den Gemarkungen Hegenheim, in Ancy, St. Julien, Vantoux und Vallières ermittelt.

Sollte sich die Seuche in Deutschland weiter ausbreiten, so würden die Vernichtungsarbeiten, wie sie bisher vorgenommen wurden, keinen Zweck mehr haben; die preußische Regierung hat daher an die künftige Neubepflanzung der zerstörten Weinberge mit veredelten Reben auf amerikanischen Unterlagen gedacht und neue Rebenveredelungsstationen bei Geisenheim-Eibingen, Engers und Trier und in der Provinz Sachsen begründet. Die „biologischen" Untersuchungen hinsichtlich der Reblaus, welche angestellt wurden, beziehen sich auf Flugzeit, Größenverhältnisse der Eier und der Tiere, Eiablage. Dabei wird es unter anderem wahrscheinlich gemacht, daß die größeren Eier, aus denen geschlechtliche Weibchen hervorgehen, und die kleineren, aus denen die Männchen ausschlüpfen, von verschiedenen Individuen der geflügelten ungeschlechtlichen Phylloxera gelegt werden.

Stand der Reblauskrankheit im Auslande.

1) In Frankreich wurden 1892 221 Arrondissements, 1894 240 Arrondissements in 67 Departements für verseucht erklärt. In der Champagne war bis 1892 die Reblaus an 11 verschiedenen Stellen gefunden worden, wozu 1893 noch einige weitere Herde kamen. In Algier hat man um Philippeville die Schwefelkohlenstoffbehandlung aufgegeben und schreitet zu den veredelten amerikanischen Reben.

2) In Spanien sind jetzt 15 Provinzen von der Reblausseuche befallen. Dieselbe hat sich in besorgniserregender Weise verbreitet und waren schon 1891 von 1706573 ha Weinland 193418 ha verseucht (168097 ha zerstört).

3) In Portugal hatte 1892 die Verseuchung der nördlichen Teile an Ausdehnung zugenommen, bis Ende 1890/91 wurden zu den Vernichtungsarbeiten 1783720 kg Schwefelkohlenstoff verbraucht, 443144 kg mehr als im Vorjahre. In der vierten agronomischen Region hatte sich die Reblaus besonders stark ausgebreitet, ohne daß man im allgemeinen eine Bekämpfung des Uebels versuchte. Im südlichen Teile Portugals war die Verseuchung nach der XV. Denkschrift eine geringere, doch tritt auch dort die Phylloxera seit 1891 in allen Regionen auf (1891: 75487 ha). 1892 kamen neue Herde hinzu, und zwar 2 in der sechsten agronomischen Region, in der siebenten Region in 5 Bezirken. Im Bezirke Azambuja trat auch die Peronospora viticola heftig auf.

4) Schweiz. Im Kanton Zürich hat die Verseuchung stark abgenommen. Während 1890 154 Herde mit 426 kranken Reben konstatiert wurden, fanden sich 1891 nur 88 neue Herde und diese Zahl ging 1892 auf 57 zurück. Im Kanton Neuenburg zeigte sich 1891 teilweise eine Abnahme, teilweise eine Zunahme des Uebels; es wurden im ganzen 258 Herde mit 1752 kranken Rebstöcken ermittelt. 1892 wurden 195 Reblausherde mit 1499 kranken Reben ermittelt, darunter ein solcher mit 419 kranken Reben bei Boudry. Im Kanton Genf wurden 1891 3034, 1892 10129 Reben verseucht gefunden, so daß sich die Lage besonders verschlimmert hat. Die

Kosten betrugen 1892 70667 Fr. In einem Teile der Gemeinden ist das Vernichtungsverfahren aufgegeben und die Anpflanzung amerikanischer Reben gestattet worden.

5) In Italien stieg die Zahl der verseuchten Provinzen 1892 auf 25, die der verseuchten Gemeinden auf 386 (gegen 3 Gemeinden im Jahre 1879). Die hinzugekommenen Provinzen sind Bologna, Rom, Pisa, Arezzo. In 9 von den 386 Gemeinden wurde die Infektion unterdrückt, in 71 fährt man mit der gänzlichen Zerstörung der befallenen Weinberge fort und in den anderen 306 Gemeinden hat man das Vernichtungsverfahren verlassen, wodurch eine merkliche Verschlimmerung eintrat. Die meisten und ausgedehntesten Herde befinden sich auf Sicilien (163697 ha), in der Provinz Sassari auf Sardinien (11715 ha), in der Provinz Reggio in Calabrien (9467 ha). Auf Elba wurden 886 ha heimgesucht. Zieht man die Inseln ab, so bleiben für die Halbinsel 10758 ha.

6) In Oesterreich waren Ende 1891 verseucht und seuchenverdächtig in Niederösterreich 882,9 ha, Steiermark 7173,76 ha, Krain 6403,39 ha, Istrien 10830,45 ha, Triest 1244 ha, Görz 1474,59 ha, Mähren 411,31 ha, zusammen 36420,4 ha bei einer Gesamtweinbaufläche von 152799 ha (1892) und 1893 wurde das Auftreten der Phylloxera festgestellt in:

Niederösterreich (7) in 15 Gemeinden, Steiermark (16) in 4 Gemeinden, Krain (6) in 1 Gemeinde, im Küstenlande (10) in 3 Gemeinden.

In Ungarn waren 1892 Gemeinden in 9 Komitaten verseucht. Die Komitate Temes und Krasso-Szöreny hatten allein in 12 Jahren einen Verlust an Bodenwert von 10542000 fl. (jährlich 210844 fl. staatl. Steuerausfall). Die Weingärtenbesitzer beider Komitate verlieren jährlich an Ertrag 3142660 fl., die Tagelöhner eine Einnahme von 1581330 fl. — Auch 1893 hat sich die Seuche in Ungarn weiter verbreitet.

7) In Rußland hat sich der Stand der Reblausseuche ebenfalls derart verschlimmert, daß man mit den Vernichtungsarbeiten nicht mehr durchkommen zu können glaubt. Es wurden 1892 zur Bekämpfung der Phylloxera im Kaukasus rund 72248, in Bessarabien 91000 Rubel aufgewendet. In der Krim wurde die Reblaus 1894 im Kreise Jalta aufgefunden.

8) In Rumänien trat die Reblaus 1892 in der Gemeinde Cotnar, Kreis Jassy und der Ortschaft Badeni auf, wo 11,12 ha vernichtet werden mußten. Im Bezirke Botuschan fand sie sich in 6 Ortschaften. Der Seuche verdächtig waren insgesamt 250 ha. 1893 mußten im Distrikte Vâlcea 20 ha Weinbergfläche vernichtet werden.

9) In Serbien waren bis Ende 1892 von den vorhandenen 43304,8 ha Weinland 9959,8 ha von der Reblaus zerstört und 11259,5 ha befallen.

10) In Bulgarien wurde die Reblaus 1892 außer in den bereits verseuchten Bezirken Widdin und Lom auch in den Bezirken Plewna und Wratza festgestellt. Ende 1890 waren im Bezirke Widdin 1268 ha, im Bezirke Lom 200 ha verseucht.

11) Türkei. 1891 war die Krankheit im Bezirke von Konstantinopel in den südlichen Vororten von Konstantinopel, Makrikeny, Jedikule aufgetreten. Im Villajet Aidin waren von 18 000 ha Weinpflanzungen ca. 900 ha, 1893 von 100 000 ha Weinland 15 000 ha verseucht. Ende 1892 trat die Reblaus auch um Sevdiköi, auf Samos und um Gallipoli auf. 1893 wurden neue Herde in den südlichen Vororten von Konstantinopel befallen. In der asiatischen Türkei ist an der kleinasiatischen Küste in Tschamlidja, Beylerbey, Skutari, Evenköi, Cozzetak, Djadi, Bostandji, Bakkalkoi, Maltepe, Soganli, Jakkadjik bereits eine Fläche von 2000 ha ergriffen.

12) In Australien wurde (nach XV. Denkschr.) die Reblaus in der Kolonie Neu-Süd-Wales im alten Reblausbezirke von Seven Hills 20 Meilen südlich von Sidney beobachtet, am 7. Juni 1893 wurden betr. Maßregeln zur Bekämpfung der Reblaus erlassen.

F. Ludwig (Greiz).

Rabourdin, Lutte contre le Phylloxera. (Compt. rend T. CXVIII. 1894. p. 1368.)

Seine Weinstöcke, welche auf sandig-thonigem Terrain mit kalkhaltigem Untergrunde wachsen, schützt Verf. gegen die Reblaus mit Erfolg durch folgendes Verfahren: Rings um jeden Stock wird die Erde aufgegraben und mit 2 l einer Flüssigkeit begossen, welche auf 100 l Wasser 3 kg schwefelsaures Zink und 500 g Schwefelsäure enthält. Die aufgehackte Stelle wird dann mit gepulvertem Eisenphosphat bestreut und nach Verlauf weniger Tage, wenn die Luft die Alkalinität des Phosphates genügend neutralisiert hat, wieder mit Erde zugeschüttet.

Bei Stöcken, die bereits seit 2 Jahren in dieser Weise behandelt worden waren und sich in genügend gutem Vegetationszustande befanden, waren an den Wurzeln lebende Insekten nicht zu finden. Wie sich diesbezüglich etwa unbehandelt gebliebene Stöcke verhielten, wird leider nicht angegeben. L. Hiltner (Tharand).

Ravaz, L., Sur une maladie de la Vigne causée par le Botrytis cinerea. (Compt. rend. T. CXVIII. 1894. p. 1289.)

In den Weingärten der Charente und Gironde hat sich im Frühjahr 1894 eine einigermaßen Besorgnis erregende Krankheit eingestellt, die sich durch das Auftreten von rostfarbigen, unregelmäßigen, wenig scharf begrenzten Flecken äußert, deren Durchmesser 15 cm erreichen kann. Kommen mehrere Flecke auf einem Blatte vor, so stirbt die ganze Blattfläche ab; dasselbe ist der Fall, wenn sich die Flecke in der Nähe der Blattstiele entwickeln.

Die Krankheit greift auch die Zweige an, und wahrscheinlich ist sie ferner die Ursache einer im Frühjahre in mehreren Weingärten aufgetretenen Fäulnis der Stielchen und Kämme der Trauben. Sie wird hervorgerufen durch Botrytis cinerea, deren Fruchtträger gewöhnlich aus der Mitte der Flecke hervorbrechen.

Die Infektion der Blätter jugendlicher Reben mit Botrytissporen führte bereits am nächsten Tage zur Entstehung der gleichen Flecken, wie sie spontan beobachtet worden waren. Die Entwickelung

des Pilzes ist demnach eine sehr rasche; sie vollzieht sich indes nur unter günstigen Bedingungen. Die Sporen keimen sehr leicht in Regenwasser auf einem Objektträger, doch können sie in demselben Wasser und unter sonst gleichen Verhältnissen auf Rebenblättern nicht zur Entwickelung gebracht werden. Leicht geht jedoch die Keimung von statten in einem flüssigen Nährmedium, und nur durch Benützung dieses Umstandes gelang die Infektion von Rebenblättern so rasch.

Ganz ähnlich verhalten sich auch die Sporen einer auf Rebenblättern parasitisch lebenden Phyllostictaart. Verf. ist geneigt, aus seinen Beobachtungen zu schließen, daß die Blätter an ihrer Oberfläche Stoffe ausscheiden, welche sich nicht nur dem Eindringen der Pilze widersetzen, sondern auch die Keimung ihrer Sporen verhindern, so daß derartige gewöhnlich saprophytisch lebende Arten nur unter ganz besonderen Verhältnissen die grünen Rebenblätter anzugreifen vermögen. Ref. hält dies für wenig wahrscheinlich. Die bereits von De Bary ermittelte Thatsache, daß die jungen Mycelien von Botrytis zur Aeußerung parasitischer Wirkungen erst einer Kräftigung durch saprophytische Ernährung bedürfen, genügt zur Erklärung der vom Verf. gemachten Beobachtungen vollkommen. Die Angabe, daß die Botrytissporen auf Rebenblättern überhaupt nicht zum Keimen gelangten, bedarf jedenfalls noch der Nachprüfung.

L. Hiltner (Tharand).

Sorauer, P., Ein Versuch mit Botrytis tenella behufs Vernichtung der Engerlinge. (Zeitschrift f. Pflanzenkrankheiten. Bd. IV. 1894. Heft V. p. 267. u. f.)

Gegenüber den widersprechenden Urteilen über die Wirksamkeit der Infektion der Engerlinge durch Botrytis tenella hielt Verf. die Anstellung einiger praktischer Versuche für wünschenswert, und derselbe teilt hier nach näherer Darlegung der Versuchsanordnung die für Annahme einer unbedingten Infektionstüchtigkeit der genannten Pilze nicht gerade günstigen Resultate mit. Diese sind in Hinblick auf die gelegentlich hervortretende einseitige Ueberschätzung des infizierenden Organismus bei epidemischen Erkrankungen von einem gewissen Interesse und deuten mit einiger Bestimmtheit auf die Notwendigkeit des Erfülltseins auch gewisser anderweitiger Umstände hin — eines übrigens vom Verf. auch bei anderen Gelegenheiten wiederholt betonten Momentes.

Die Versuche fanden in mit Gartenerde bez. Sandboden gefüllten größeren Glas- und Holzkästen, welche mit einer Anzahl verschiedenalteriger frischer Engerlinge besetzt wurden, statt; eingesetzte Salatpflanzen sorgten für eine ausreichende Ernährung der Tiere, im übrigen wurde der Erdboden in den einzelnen Abteilungen der Kästen bez. den einzelnen Versuchen verschieden feucht gehalten, ohne daß es in dem nasseren Erdreiche jedoch zu einer wirklichen Wasseranstauung kam (Abfluß durch am Boden angebrachte, durch Scherben bedeckte Löcher). Das Pilzmaterial wurde von Eckstein in Brotkulturen zur Verfügung gestellt und erwies sich nach voraufgehender Prüfung als lebenskräftig und gut. Die Einführung desselben in die

bezüglichen Versuche geschah in der Weise, daß die Tiere in dem mit Wasser verrührten Brotbrei umgewälzt und sofort in die Erde gesetzt wurden; überdies wurde noch ein durch *Botrytis* mumifiziertes Exemplar beigegeben. In einigen Kontrollversuchen unterblieb diese künstliche Zuführung des Pilzes. Am Schlusse der von Anfang Juni bis Mitte September dauernden Experimente wurde die Erde unter Vorsichtsmaßregeln gesiebt und Zahl nebst Beschaffenheit der jetzt vorhandenen Engerlinge mit der ursprünglichen verglichen.

Es ergab sich da zunächst das bemerkenswerte Resultat, daß in allen Abteilungen die meisten Engerlinge spurlos *verschwunden* waren, indem ihre Zahl von 25—50 überall auf einzelne wenige (4—10) zurückgegangen war. Dafür bleibt nur die Erklärung des auch sonst beobachteten gegenseitigen Auffressens der Tiere, denn ein Entweichen war durch die Einzelheiten der Versuchsanordnung ausgeschlossen; die wenigen restierenden Exemplare waren dann weiterhin in allen *ungeimpften* Versuchen stark entwickelt und gesund. Nicht viel anders verhielt es sich jedoch mit den reichlich durch *Botrytis infizierten*. Hier fanden sich in den *trockener* gehaltenen Abteilungen ausschließlich gesunde starke Exemplare, in einem Falle auch ein entwickelter Maikäfer; in einer *stärker durchfeuchteten* dagegen 3 gesunde normale neben 2 toten, aber nicht mumifizierten, und in einer zweiten gleichbehandelten nur 2 schwach mumifizierte neben 2 verjauchten Tieren. Somit tritt ein merklicher Einfluß der Infektion eigentlich nur in *einem* Falle hervor.

Verf. folgert alsdann, daß hiernach die größere *Nässe* des Bodens ausschlaggebender für die Vernichtung der Tiere ist, als das Vorhandensein des Pilzes; man wird also wohl annehmen müssen, daß die *Botrytis* nur dann eine epidemische Verbreitung erlangt, wenn die Engerlinge durch ungünstige Ernährungs- oder Wohnungsverhältnisse für die Erkrankung *disponiert* sind. Andererseits wird bei Gegebensein dieser Disposition eine künstliche Anzucht und Ausbreitung des Pilzes nach Verf. überflüssig, weil dann genügend für eine natürliche Vermehrung des Parasiten gesorgt ist. Im übrigen entsprechen die gewählten Versuchsbedingungen (wo also keine Impfung in *Wunden* stattfand) ziemlich genau den natürlichen Verhältnissen.

Endgiltig weist derselbe darauf hin, daß eine wirksame Bekämpfung tierischer Feinde nicht bei bloßer Züchtung und Verbreitung der Parasiten zu erwarten ist, sondern vielmehr die Aufmerksamkeit sich darauf zu richten hat, festzustellen, unter welchen künstlich abgeänderten äußeren Bedingungen die Tiere einer *Selbstinfektion* erliegen. Die so durch das Experiment festgestellten *disponierenden Verhältnisse* hat man alsdann zu versuchen, im Großen künstlich hervorzurufen.

Zwecks praktischer Bekämpfung speziell der Engerlinge dürfte sich entsprechendenfalls ein Ueberstauen der Kulturflächen mit Wasser empfehlen. *Wehmer* (Hannover).

Marchal, Paul, Sur les Diptères nuisibles aux Céréales, observés à la Station entomologique de Paris en 1894. (Compt. rend. T. CXIX. 1894. p. 496—499.)

In Poitou und in der Vendée wurde der Hafer im Jahre 1894 von den Larven einer Cecidomyia zerstört, deren Puparien vollständig jenen von Cecidomyia destructor glichen. Die in den Puparien eingeschlossenen Larven ließen jedoch erkennen, daß es sich nicht um die letzterwähnte Art handelte, welche übrigens bisher auf Hafer überhaupt noch nicht gefunden wurde. Die fragliche Diptere gewann sofort große Verbreitung und trat so massenhaft auf, daß bis zu 21 Puppen in einem Haferhalme gefunden wurden. Die angegriffenen Pflanzen sind an der Stelle, wo die Puppen sitzen, zwiebelartig aufgeblasen; sie werden in der Weiterentwickelung aufgehalten und vertrocknen meist, nachdem sie kaum einige Centimeter Höhe erreicht haben. Die Puppen finden sich im Niveau des Wurzelhalses, oder des 1., 2., seltener des 3. oder 4. Halmknotens.

Sobald die Imagines zum Vorscheine kommen, wird es sich erst entscheiden lassen, ob hier eine neue Art vorliegt oder vielleicht nur ein merkwürdiger Fall von Dimorphismus der Larven von Cecidomyia destructor. Jedenfalls wird man gegen den so plötzlich aufgetauchten Haferschädling dieselben Maßregeln zu ergreifen haben, wie gegen die Hessenfliege.

Cecidomyia destructor Say trat außer in der Vendée auch in verschiedenen anderen Departements auf; in der Vendée betrug der durch sie verursachte Schaden ungefähr die Hälfte der Ernte. Man hat bemerkt, daß der durch diese Diptere angegriffene Weizen Schosse treibt, welche grün bleiben und sich zur Zeit der Ernte kaum über die Erde erheben, so daß sie der Sense entgehen und eine sehr geeignete Ablagerungsstätte für die Eier der zweiten Generation bilden. Außer später Aussaat und Fruchtwechsel ist daher Verbrennen der Stoppeln besonders zu empfehlen.

Cecidomyia (Diplosis) tritici Kirb. ist in der Vendée ebenfalls erschienen. Die Verpuppung erfolgte, entgegen der allgemeinen Annahme, daß sich die ausgewachsenen Larven stets zur Erde fallen lassen, zum Teil auch innerhalb der Spelzen, so daß Vernichtung der Druschrückstände dringend notwendig erscheint.

In verschiedenen Gegenden hatten die Cerealien auch durch Musciden zu leiden. Oscinis pusilla Meig. entwickelte sich gegen Ende Juni zahlreich aus jenem Hafer von Poitou, welcher gleichzeitig durch die vorerwähnte Cecidomyia angegriffen war. Weniger häufig fand sich Chlorops.

Dagegen wurde eine bisher auf Cerealien noch nicht wahrgenommene Art, Camarota flavitarsis Meig., deren Entwickelung man noch nicht kannte, beobachtet. Die Fliege erschien gegen Ende Juli und Anfang August aus Weizen der Departements Haute-Garonne und Tarn. Die von ihren Larven angegriffenen Halme wurden im Wachstume aufgehalten, so daß sie kaum eine Höhe von 30 cm erreichten und ohne Aehren blieben. Die Larve, welche gegen den 15. Juni beobachtet worden war, greift die terminale Partie der

Pflanzen an und zerstört die Achse in ihrem ganzen Verlaufe von oben nach unten, indem sie nur braune, zusammenhangslose Fasern zurückläßt. Bevor sie sich verpuppt, kehrt sie wieder in die Nähe der Ausgangsstelle ihres Fraßes zurück, damit die Fliege leicht ins Freie gelangen kann. Es wurden bis 4 oder 5 Puppen in demselben Halme gefunden, von denen die einen in der Achse selbst, die anderen zwischen die Blattscheiden eingeschlossen waren.

Außer der Camarota wurde in dem Weizen aus Haute-Garonne und Tarn in ziemlich großer Anzahl eine andere Fliege wahrgenommen, welche im Laufe des Juni ausschlüpfte. Dieselbe zeigte die Charaktere von Elachiptera cornuta Meig.

Man sieht also, daß noch lange nicht alle den Cerealien schädlichen Dipteren bekannt sind. In vielen Kulturen, deren Zugrundegehen man bisher einer physiologischen oder anderen Erkrankung zuschrieb, dürften derartige noch unbekannte oder schlecht studierte Insekten im Spiele gewesen sein. L. Hiltner (Tharand).

Schutzimpfung, künstliche Infektionskrankheiten, Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Muntz, A., La végétation des Vignes traitées par la submersion. (Compt. rend. T. CXIX. 1894. p. 116.)

Die Ueberwässerung der Weinberge ist eines der wirksamsten Mittel gegen die Reblaus. Sie wird im Süden und Südwesten Frankreichs, da wo Terrainbeschaffenheit, Relief des Bodens und die Nähe von Flüssen es gestatten, im großen Maßstabe angewendet. Die Weinberge werden während einer Periode von 50—60 Tagen 20—30 cm hoch unter Wasser gehalten, das meist mittels mächtiger Pumpen zugeführt wird.

Verf. hat die Produktionsbedingungen von Weinbergen, die unter Wasser gesetzt worden waren, näher studiert und zunächst die Frage zu beantworten gesucht, warum in solchen Weinbergen die Wurzeln des Weinstockes nicht ersticken, trotzdem doch wenigstens gewisse Teile des Bodens in reducierende Medien umgewandelt werden, die nicht eine Spur Sauerstoff enthalten. Diesbezügliche Versuche ergaben, daß die Wurzeln nur da gesund bleiben, wo sich im Boden Nitrate befinden. Aus den Arbeiten von Schloesing und Anderen weiß man, daß die Nitrate in einer von Sauerstoff befreiten Erde unter dem Einflusse von Mikroorganismen sich zersetzen, wobei sich freier N, NO und NO_2 bilden. Letzteres Gas vermag die Verbrennung an Stelle des Sauerstoffes zu unterhalten und unterstützt die Wurzeln während der ganzen Dauer der Bewässerung in ihren respiratorischen Funktionen. Weitere Versuche lassen aber außerdem erkennen, daß auch die Wurzeln selbst den Nitraten Sauerstoff zu entziehen imstande sind.

Die Ueberwässerung schützt die Weinberge nicht nur vor den Angriffen der Reblaus, sondern auch vor den nachteiligen Wirkungen der Frühjahrsfröste. Sie ist aber mit großen Kosten verbunden; insbesondere zieht sie, wie Verf. an einem Beispiele des Näheren nachweist, enorme Verluste an Stickstoff nach sich, die natürlich stets durch entsprechende Düngung ersetzt werden müssen.

L. Hiltner (Tharand).

Corrigendum.

In Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. II. Abt. 1895. No. 4/5. p. 153. Zeile 11 von oben ist zu lesen „über denselben" statt „denselben Pilz"; p. 155. Fußnote 1. Zeile 5 von oben ist zu streichen „überhaupt"; p. 157. Fußnote 2. Zeile 2 und 3 von oben sind als Autoren zu lesen nicht „Sicktheim" und „Werden", sondern „Lichtheim" und „Wreden".

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

Dr. Wilhelm Windisch.

Allgemeines über Bakterien und andere Mikroorganismen.

Brandão, R. e **Azevedo, R.**, Creacao de um instituto bacteriologico no Estado da Bahia. (Gaz. med. da Bahia. 1893/94. p. 531—540.)

Bunge, R., Zur Kenntnis der geißeltragenden Bakterien. (Fortschr. d. Medizin. 1894. p. 613.)

Colpe, J., Hefezellen als Krankheitserreger im weiblichen Genitalkanal. (Arch. f. Gynäkol. Bd. XLVII. 1894. Heft 3. p. 635—645.)

D'Arsonval et **Charrin**, Influence des agents atmosphériques, en particulier de la lumière, du froid, sur le bacille phycocyanogène. (Compt. rend. des séanc. de l'Acad. des sciences de Paris. Tome CXVIII. 1894. No. 3. p. 151—153.)

Deycke, G., Die Benutzung von Alkalialbuminaten zur Herstellung von Nährböden. (Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. I. Abt. Bd. XVII. 1895. No. 7/8. p. 241.)

Elfving, Einige Beobachtungen über den gewöhnlichen Schimmelpilz, Penicillium glaucum. (Bot. Centralbl. Bd. LXI. 1895. p. 154.)

Guignard et **Sauvageau**, Sur un nouveau microbe chromogène, le Bacillus chlororhapis. (Compt. rend. de la Société de biologie à Paris. 1894. 22. Dec.)

Klebahn, H., Verzeichnis einiger in der Umgegend von Plön gesammelter Schmarotzerpilze. (Forschungsber. a. d. Biol. Station zu Plön. 1895. Teil III. p. 68—70.)

Klein, L. u. **Migula, W.**, Arbeiten aus dem bakteriologischen Institut der technischen Hochschule zu Karlsruhe. Bd. I. Heft 1. gr. 8°. 147 p. mit 2 Taf. Karlsruhe (O. Nemnich) 1895. 7 M.

Krause, L., Die Technik der Pharmazie, Bakteriologie und verwandter Zweige der Chemie. Erstes Bezugsquellen-Handbuch für Apotheker, Chemiker, Drogisten etc. 8°. III, 7 u. 7 p. Mit Abbildgn. Apolda (Hugo Jackob) 1895. 0,50 M.

Nasse, O., Wirkung der Fermente. (Rostocker Zeitung vom 15. Dezember 1894.)

Parona, C., L'elmintologia italiana dai suoi primi tempi all' anno 1890. 8°. 733 p. e una carta. Torino 1894.

Schrank, J., Anleitung zur Ausführung bakteriologischer Untersuchungen zum Gebrauche für Aerzte, Tierärzte, Nahrungsmittel-, Agrikultur- und Gärungschemiker, Apotheker und Bautechniker. Mit 137 Abbildgn. Leipzig u. Wien (Franz Deuticke) 1894. 3 fl. 60 kr.

Stiles, Ch. Wardell, Notes on Parasites. (Centralbl. f. Bakteriol. u. Parasitenk. I. Abt. Bd. XVII. 1895. No. 7/8. p. 254.)
Ward, H. M., Influence de la lumière sur les microbes. (Revue scientifique. II. 1894. p. 193—229.)

Systematik, Morphologie und Biologie der Bakterien und anderer Mikroorganismen.

Beyerinck, Over sulfaatreduction door Spirillum desulfuricans. (Koninkl. Akad. v. wetensch. Vergad. d. afdel. natuurk. 29. 9. 1894. p. 72.)
Berlese, A. N., Saccharomyces et Dematium. (Revue de viticulture. T. II. 1894. p. 301.)
Fischer, Bernh. u. Brebeck, Carl, Zur Morphologie, Biologie und Systematik der Kahmpilze, der Monilia candida Hansen und des Soorerregers. gr. 8°. 52 p. m. 2 Taf. Jena (G. Fischer) 1895. 4 M.
Géneau de Lamarlière, L., Quadro synoptico das Ustilagineas e das Uredineas. (Boletim da sociedade Broteriana, Coimbra 1894. p. 210—267.)
Klein, E. A., Contribution to the morphology of bacteria. (Quart. Journ. of microscopical science. 1894/95. p. 1.)
Rodet, A., De la variabilité dans les microbes au point de vue morphologique et physiologique (application à la pathologie générale et à l'hygiène). gr. 8°. Paris (Baillière) 1894. 6 fr.
Ward, H. M., Action of light on bacteria and fungi. (Chem. News. 1894. No. 1824. p. 228—230.)

Mikroskopie.

Meister, Ed., Ein neues Universal-Bakterien-Mikroskop. (Zeitschr. f. Nahrungsmittel-Untersuchung, Hygiene und Warenkunde. Jahrg. IX. 1895. Heft 4. p. 55.)

Allgemeine Gärungsphysiologie.

Prior, E., Physikalisch-chemische Erklärung der Gärungserscheinungen. (Bayer. Brauerjournal. Jahrg. V. 1895. No. 9. p. 97.)

Molkerei.

Bähnke, G., Rahmansäuerung mittels Reinkultur und Pasteurisierung. (Milchzeitung. Jahrg. XXIV. 1895. No. 8. p. 119.)
Fleischmann, Die Behandlung der Milch im Stalle. Vortrag, gehalten auf der in Tapiau abgehaltenen Versammlung der Delegierten der Molkereigenossenschaften des Verbandes der landwirtschaftlichen Genossenschaften Ostpreußens. (Der Landwirt. Jahrg. XXXI. 1895. No. 17. p. 98.)

Brauerei.

Munsche, E., Zur Frage der Vergärbarkeit bezw. Nichtvergärbarkeit der Isomaltose durch die Hefen Frohberg und Saaz, zugleich kritische Bemerkungen zu der von Prior in seiner Abhandlung „Ueber die Umstände, welche den Vergärungsgrad des Bieres bei der Haupt- und Nachgärung bedingen" gegebenen Erklärung der Gärungserscheinungen. (Wochenschr. f. Brauerei. Jahrg. XII. 1895. No. 7. p. 141.)
Reichard, Albert u. Riehl, Albert, Zur Kenntnis und Bekämpfung der Sarcinakrankheit. (Zeitschr. f. das ges. Brauwesen. Neue Folge. Jahrg. XVIII. No. 8, 9, 10.)

Weinbereitung.

Reusch, Fr. J., Eine neue Weinkrankheit. (Pharmazeut. Zeitung. Bd. XXXVIII. 1894. p. 864.)
Schnell, Erfahrungen bei der Hefereinzucht unter Verwendung reingezüchteter Hefen zur Weinvergärung. (Zeitschr. f. angewandte Chemie. 1894. p. 417.)

Preſshefefabrikation.

Stenglein, M., Das Hefensortierungs-Verfahren und die Hefensortier-Apparate. (Alkohol. Jahrg. V. 1895. No. 6. p. 81.)

Düngung.

Burri, R., Herfeldt, E. u. Stutzer, A., Ursache der Stickstoffverluste in faulenden organischen Stoffen. (Journ. f. Landwirtsch. Bd. XLII. 1894. p. 329—384.)

Nahrungs- und Genußmittel, Konserven etc.

Beckurts, Jahresbericht über die Fortschritte in der Untersuchung der Nahrungs- und Genußmittel. Jahrg. I, II u. III. Göttingen (Vandenhoeck & Ruprecht) 1893, 1894.

Ruhland, G. u. Wallace, Robert, Ueber die Vieh- und Fleischeinfuhr aus Nordamerika. (Ill. landwirtschaftl. Zeitg. 1894. No. 86. p. 631—632.)

Wasser.

Burri, R., Ueber Untersuchung des Trinkwassers auf Fäkalbakterien. Vortrag gehalten auf der Sitzung des Rheinischen Bezirksvereines der Deutschen Gesellschaft für angewandte Chemie am 4. November 1894 zu Bonn a. Rh.

Guiraud, Les eaux potables de la ville de Toulouse au point de vue bactériologique et sanitaire. (Revue d'hygiène. 1894. No. 11. p. 934—946.)

Hulwa, Franz, Ueber Selbstreinigung der Flüsse. Vortrag gehalten am 9. Oktober 1894 in der Sitzung des Schlesischen Zweigvereines der Rübenzuckerfabrikanten des Deutschen Reiches zu Breslau. (Zeitschr. des Vereins für die Rübenzucker-Industrie des Deutschen Reiches. 1895. Lief. 469. Februarheft. p. 137.)

Istvanffy, G. v., Die Vegetation der Budapester Wasserleitung. (Botan. Centralblatt. Jahrg. LXI. 1895. p. 7.)

Kleiber, A., Ueber bakteriologische Wasseruntersuchungen. (Schweiz. Wochenschr. f. Chemie u. Pharmazie. 1894. No. 44. p. 441—449.)

Oppermann, S., Ueber elektrische Reinigung von Gebrauchswasser. (Elektrochemische Zeitschrift. Jahrg. I. 1895. p. 97—105.)

Richardson, F. W., Bacteriological Analysis of Water. Part I. (Journ. of the Society of Chem. Industry. Jahrg. XIII. 1894. p. 1157—1160.)

Durch Parasiten verursachte Krankheiten der Pflanzen.

Arthur u. Holway, Uredineae exsiccatae et icones. Fasc. I. Decorah. 1894. Sept.

Baccarini, P., Il malo nero della vite. (Staz. sperim. agrar. Ital. 1894. p. 144.)

Barth, Einige neue Beobachtungen über die Blattfallkrankheit der Reben. (Landw. Zeitschr. f. Elsaß-Lothringen. 1894. No. 34. p. 265.)

Beal, W. J., Puccinia Malvacearum. (The Botan. Gaz. 1894. p. 468.)

Berlese, A. N., Alcune idee sulla predisposizione della piante all' infezione parassitaria ed alla „vacciniazione" delle medesime. (Rivista di Patologia vegetale. Vol. II. 1895. p. 1—11.)

Brizi, U., Sulla malattia della vite de Brunissure ad annerimento. (Boll. della Soc. Bot. Ital. 1894. p. 283.)

Cousins, H., Versuche zur Bekämpfung von Hopfenkrankheiten durch chemische Mittel. (Allg. Brauer- u. Hopfenzeitg. Jahrg. XXXV. 1895. No. 28. p. 425.)

D'Almeida, V. et Da Motta, Prego J., Les maladies de la vigne en Portugal pendant l'année 1894. (Bull. de la Soc. Mycol. de France. 1894. p. 170.)

Eloste, P., Sur une maladie de la Vigne, déterminée par l'Aureobasidium Vitis. (Compt. rend. T. CXIX. 1894. No. 12.)

Ferry, R., Spot diseases of Cherry: Cylindrosporium Padi Karst. (Nach einer Arbeit von Pammel.) Mit Tafeln. (Revue mycol. 1895. p. 35.)

— —, Le Fusicoccum abietinum Sacc. (Revue mycol. 1895. p. 25.)

Frank u. Sorauer, Die Rübenkrankheiten im Jahre 1893. (Jahresbericht des von der deutschen Landwirtschaftsgesellschaft errichteten Sonderausschusses für Pflanzenschutz.)

Galloway, B. T., The diseases of Potatoes in the United States. (Farmers' Bulletin. Washington 1894.)

Giard, Sur l'Isaria Barberi, parasite de Diatroea saccharalis Fab., et sur les maladies de la canne à sucre aux Antilles. (Compt. rend. de la soc de biol. à Paris. 1894. 22. Dec.)

Greaves, L. W. Herbert, Apple canker. (The Gardeners Chronicle. Ser. III. Vol. XVII. 1895. p. 72.)

Jammes, L., Recherches sur l'organisation et le développement des nématodes. Avec 11 fig. et 11 planch. en couleur. gr. 8°. Paris (Reinwald) 1894. 7,50 fr.

Juel, H. O., Mykologische Beiträge I. Zur Kenntnis einiger Uredineen aus den Gebirgsgegenden Skandinaviens. (Öfvers. af K. Vet. Akad. Förh. 1894. p. 409.)
Lavergne, G. et Marre, E., Nouvelles observations sur les caractères extérieurs du Black-Rot. (Revue de viticult. Année I. Tome II. 1894. p. 498.)
Ludwig, F., Die Alkoholgärung der Eichen im Jahre 1894. (Forstl.-naturwissensch. Zeitschr. 1894. p. 523.)
Magnus, P., Das Auftreten der Peronospora parasitica, beeinflußt von der Beschaffenheit und dem Entwickelungszustande der Wirtspflanze. (Berichte der deutschen botanischen Gesellschaft. Jahrg. XII. Generalversammlungsheft vom 22. Febr. 1895. p. 39. Mit 1 Tafel)
Massee, G., Diseases of the vine (Cont.). (The Gardeners Chronicle. Ser. III. Vol. XVII. 1895. p. 134.)
Metzger, A. u. Müller, N. J. C., Die Nonnenraupe und ihre Bakterien. Untersuchungen, ausgeführt in den zoologischen und botanischen Instituten der kgl. preuß. Forstakademie Münden. (Mündener forstliche Hefte. 1895. Beiheft I.) 8^{0}. V, 160 p. Mit 45 farb. Taf. u. 46 Blatt Erklärgn. Berlin (Julius Springer) 1895. 16 M.
Moore, Veranus, A., An inquiry into the alleged relation existing between the Burrill disease of corn and the so-called corn-stalk disease of cattle. (Agricultural Science. Vol. VIII. 1894. No. 6—9. p. 368—385.)
Pieters, A. J., The history of the Uredineae. (Asa Gray Bulletin. III. 1895. No. 8. p. 8—10.)
Prillieux et Delacroix, Sur quelques champignons nouveaux on peu connus parasites sur les plantes cultivées. (Bull. de la Soc. Mycol. de France. 1894. p. 161 c. tab.)
Sadebeck, Ueber das Auftreten und die Verbreitung einiger Pflanzenkrankheiten im östlichen Alpengebiet, namentlich in Tyrol. (Forstl.-naturwissenschaftl. Zeitschrift. Jahrg. IV. 1895. Heft 2. p. 82.)
Sanfelice, Contribution à la morphologie et à la biologie des Blastomycètes, qui se développement dans les sucs de divers fruits. (Annales de Micrographie. 1894. No. 10.)
Scheuthle, W., Zur Bekämpfung des Getreiderostes. (Fühling's landwirtschaftl. Ztg. Jahrg. XLIV. 1895. Heft 4. p. 131.)
Smith, W. G., Untersuchung der Morphologie und Anatomie der durch Exoasceen verursachten Sproß- und Blattdeformationen. (Forstl.-naturwissenschaftl. Zeitschr. III. 1894. p. 420—427, 433—465, 473—482. Mit 18 Textfig. u. 1 Taf.)
Steglich, Zur Bekämpfung von Getreideschädlingen. (Der Landwirt. Jahrg. XXXI. 1895. No. 8. p. 44.)
Tubeuf, K. v., Erica cornea, befallen von Hypoderma. (Bot. Centralbl. XVI. 1895. p. 49.)
— —, Kranke Lärchenzweige. (Bot. Centralbl. XVI. 1895. p. 48.)
Zawodny, J. F., Die Reblaus (Phylloxera vastatrix Pl.). Ein Mahnwort an unsere Winzer. 8^{0}. 32 p. Mit Abbildgn. Znaim (Fournier & Zaberler) 1895. 0,40 M.

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien.

Bolton, M., The effects of various metals on the growth of certain bacteria. (Internat. med. Magaz. 1894. Dec.)
Galloway, B. T., The effect of spraying with fungicides on the growth of nursery stock. (Dir. of Veg. Pathology, United States Department of Agriculture. Bulletin No. 7. Washington 1894. 41 p. With 17 woodcuts.)
Nuttall, George H. F., Bemerkung zu der Arbeit von Walliczek: Ueber die bactericiden Eigenschaften der Gerbsäure (Tannin der Apotheken). (Centralbl. f. Bakteriol. u. Parasitenk. I. Abt. Bd. XVII. 1895. p. 131.)

Inhalt.

Originalmitteilungen.

Zusammenfassende Uebersichten.

Original-Referate aus bakteriologischen Instituten etc.

Referate.

Schutzimpfung, künstliche Infektionskrankheiten, Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien und Parasiten.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

1895. Centralblatt Bd. I. No. 7/8.
für Bakteriologie und Parasitenkunde.
II. Abteilung.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

CENTRALBLATT
für
Bakteriologie und Parasitenkunde.

Zweite Abteilung:
Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie und Pflanzenpathologie.

In Verbindung mit
Prof. Dr. **Adametz** in Krakau, Dr. W. M. **Beyerinck** in Delft, Prof. Dr. **A. B. Frank** in Berlin, Dr. **v. Freudenreich** in Bern, Prof. Dr. **Emil Chr. Hansen** in Kopenhagen, Dr. **Lindner** in Berlin, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Prof. Dr. **Stutzer** in Bonn, Privatdocent Dr. **Wehmer** in Hannover, Dr. **Weigmann** in Kiel, Dr. **Wilfarth** in Bernburg und Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg
herausgegeben von

Dr. O. Uhlworm in Cassel.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

I. Band. Jena, den 30. April 1895. **No. 9/10.**

Preis für den Band (26 Nummern) 16 Mark.

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde" richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige ***Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.***

Original-Mittheilungen.

Der Ursprung der Weinhefen.

Von

Alfred Jörgensen,

Direktor des gärungsphysiologischen Laboratoriums zu Kopenhagen.

Wie schon früher mitgeteilt[1]), machte Herr John J. Juhler im Herbste 1894 die schöne Entdeckung, daß die Konidien von Aspergillus Oryzae, wenn der Pilz seine diastatische Wirk-

1) Diese Zeitschrift. 1895. No. 1.

samkeit auf Stärke entfaltet und letztere in Zucker verwandelt, in Hefezellen umgebildet werden, welche eine kräftige Alkoholgärung hervorbringen und alle Eigenschaften der typischen Saccharomyceten besitzen [1]).

Da ich gleichzeitig mit Untersuchungen im Gebiete der Weingärung beschäftigt war, wurde ich durch die obengedachte Beobachtung natürlich zu der Frage veranlaßt, ob die auf den Trauben auftretenden typischen Saccharomyceten, die ja nachweislich den weitaus überwiegenden Teil der Weinhefe ausmachen, gleichfalls von den Schimmelpilzen herstammen. Wie bekannt, wurde hierüber vielerlei geschrieben und behauptet; allein ebenso bekannt ist es, daß alle bisher erschienenen Mitteilungen nur Mutmaßungen waren, die einer jeglichen experimentellen Grundlage entbehrten.

Es war mir aber ferner klar, daß, wenn ein solcher genetischer Zusammenhang zwischen Schimmelpilzen und Weinhefen bestände, aller Wahrscheinlichkeit nach die Umwandlung in der Natur stetig vor sich gehen müßte, und es müßte mithin direkt auf den Trauben gesucht und mit den auf denselben auftretenden Vegetationen experimentiert werden, soweit möglich unter den natürlichen Verhältnissen, d. h. sämtliche Kulturversuche müßten auf dem natürlichen Substrate, den Trauben selbst, durchgeführt werden.

Indem ich diese Methode plangemäß durchführte, zeigte es sich, daß meine Voraussetzung in betreff der Weinhefe richtig war; es ist mir auf dem oben angegebenen Wege gelungen, die ganze Entwickelung von Schimmelpilz bis zu Saccharomycespilz durchzuführen, und ich war gleichzeitig in der Lage, den Grund zu sehen, warum die energischen Bestrebungen, welche im Laufe der Jahre gemacht wurden, um dieses wichtige Problem zu lösen, erfolglos blieben. Durch Züchtung der unten näher beschriebenen Schimmelpilze auf einer Reihe künstlicher Substrate ist es mir — jedenfalls bisher — nur möglich gewesen, einzelne Bruchstücke der ganzen Kette hervorzubringen: entweder das eine Schimmelstadium oder das andere Schimmelstadium und Torulastadium oder das Saccharomycesstadium. Nur die Kultur auf der Oberfläche der Traube hat mir den ganzen Entwickelungsgang von Beginn bis zum Ende gezeigt.

Meiner Methode gemäß mußte ich die Vegetationen, welche auf Trauben, die ich in feuchten gläsernen Schalen zur Schimmelbildung hinstellte, auftraten, auf anatomischem Wege durchsuchen, indem ich

---

1) Ich habe, wie in der obengenannten Nummer der Zeitschrift mitgeteilt, diese Entdeckung durch direkte Beobachtung in der feuchten Kammer bestätigt. Mein Verfahren war folgendes: In großen Boettcher'schen Kammern wurden in Tropfen flüssiger Reisstärke einzelne Schimmelkonidien ausgesäet. Diese keimten in gewöhnlicher Weise, und das Mycelium fruktifizierte. Die auf diesem Mycelium gebildeten Konidien zeigten mir die Umwandlung: Die in der Luft entwickelten Konidien hatten die gewöhnliche Gestalt und den gewöhnlichen Bau; die in die Flüssigkeit eingesenkten Konidien zeigten nach und nach alle Uebergangsformen bis zu klaren ellipsoïdischen Zellen. Zuletzt war bei diesen Vegetationen das oberste Stück des Konidienträgers sowie die Sterigmen vollkommen aufgelöst. — Nach Verabredung mit Herrn Juhler werde ich diese anatomischen Verhältnisse in allen Einzelheiten beschreiben.

die Myceliumbildungen, sobald dieselben eben durch starke Lupenvergrößerung sichtbar waren, mit aller Vorsicht auspräparierte und nachher ihre Entwickelung allmählich durch neue Präparationen verfolgte, um solchem Materiale auf die Spur zu kommen, welches zur Beantwortung der gestellten Frage dienen könnte. Nach längerem mühsamen Suchen gelang es mir endlich, eine Vegetation aufzufinden, welche aus typisch entwickelten, verzweigten Hyphen bestand, auf denen Zellen sich entwickelt hatten, unter welchen einige eine deutliche endogene, Saccharomyces-ähnliche Sporenbildung aufwiesen.

Zellenindividuen aus diesem Materiale wurden danach isoliert und teils auf sterile Trauben, teils auf sauere Gelatine und teils auf alkalische Gelatine ausgesäet. Hier zeigte sich nun im Laufe der ersten Tage die bemerkenswerte Erscheinung, daß die Vegetation auf den verwendeten alkalischen Gelatinen ein typisches Bild von Chalara, im wesentlichen mit Cienkowski's und Hansen's Abbildungen [1]) übereinstimmend, gab, während die Vegetation auf den angewendeten saueren Gelatinen ein typisches Bild eines Dematium, ungefähr mit de Bary's, Loew's und Zopf's Abbildungen stimmend [2]), hervorbrachte. Bei Uebertragung der Dematium-artigen Vegetation aus den saueren, festen Substraten auf die alkalischen Substrate trat dieselbe mit dem typischen Bilde der Chalara auf, und umgekehrt. Beide Arten von Vegetationen brachten eine üppige Bildung ellipsoïder Zellen hervor; es ist mir aber bisher nicht möglich gewesen, diese Zellen zu neuen Entwickelungsphasen zu bringen; sie verhalten sich fortwährend hartnäckig wie die sogenannten Torulaformen [3]) oder wie Dematium-Konidien.

Auf den sterilen Trauben gaben die ausgesäeten Zellen-Individuen zuerst die gleiche Dematium-artige Vegetation wie auf den saueren Gelatinen. Nach Verlauf einiger Tage aber ging die Entwickelung weiter, indem der oberste Teil der Mycelienfäden durch reichliches Auftreten von Querwänden kurze, rektanguläre Zellen mit abgerundeten Ecken bildete; durch eine Reihe von Uebergangsgliedern und Verzweigungen entwickelte sich oben ein dichtes Knäuel verschieden geformter Zellen, wodurch einzelne Vegetationen gewissermaßen einige Aehnlichkeit mit einer Botrytis bekamen; in anderen, schwächeren Vegetationen trat nur eine einzelne Reihe von Konidien auf, von denen die niederen viereckig, oïdiumartig waren, mit schwach abgerundeten Ecken; nach und nach gingen diese Zellen in ovale Formen über.

Wenn diese Glieder eine gewisse Reife erreicht hatten, dann trat in den oberen Konidien eine Sporenbildung ein. Durch Auspräparieren dieser Konidien fand ich die schönsten Ueber-

1) Die Pilze der Kahmhaut. (Bulletin Ac. St. Pétersbourg. T. VIII und XVII. E. Chr. Hansen, Compt. rend. du Lab. Carlsberg 1879.

2) De Bary, Vergl. Morph. d. Pilze. p. 293. Loew, Pringsheim's Jahrbücher. Bd. VI. Zopf, Die Pilze. p. 45.

3) Cfr. Hansen's Abbildungen in den Comptes-rendus du Lab. de Carlsberg. Vol. II.

gangsformen von schwach abgerundeten, rektangulären Gliedern mit einem kurzen Seitenzweige und mit Sporenbildung sowohl im Gliede der Hauptachse als im Seitenzweige bis abgerundete Glieder mit verkümmerten Anlagen zu Seitenzweigen und mit Sporenbildung nur im Achsengliede, und schließlich bis zu vollkommen ovalen Zellen mit 2—4 Sporen, welche von den gewöhnlichen ellipsoïdischen Saccharomyces-Zellen der Weinhefe nicht unterschieden werden konnten.

Diejenigen Fäden, welche sporenbildende Zellen hervorbringen, zeigen stets ein abgeschwächtes Aussehen und beinahe entleerte Zellen, welche im Begriffe sind, abzusterben, indem sie einer neuen Generation weichen. Dagegen sind die Chalara- und Dematium-ähnlichen Fäden, welche Torula-artige Zellen hervorbringen, stetig in kräftiger Vegetation begriffen.

Meine Untersuchungen über die Bedingungen für die Entwickelung dieser Endosporen-bildenden Konidien haben zu ganz besonderen Aufklärungen geführt, welche viele praktische Beobachtungen erklären können.

Die günstigste Temperatur liegt bei ca. 20° C; wenn die Temperatur von diesem Punkte aus herab- oder emporgeht, so nimmt die Menge von Torula-artigen Zellen zu, und bei 35° C hat die Endosporenbildung sich in meinen Kulturen gar nicht gezeigt; das Mycel verschwindet nach und nach ganz bei diesem hohen Wärmegrade, und die Vegetation auf den Trauben giebt ein typisches Bild einer reichen Torulaentwickelung. Eine andere interessante Sache ist diese, daß die Bildung der Sporen ganz erheblich gehemmt wird, wenn die Kultur auf einem stark feuchten Substrate oder in Luft mit Wasserdämpfen gesättigt gebracht wird; dieselbe nachteilige Wirkung übt eine sehr trockene Luft und ein trockenes Substrat aus.

Die verschiedenen Sporen bildenden Zellen wurden dann in Weinmost, sowohl in Kolben als in feuchten Kammern, eingeführt. Die Sporen keimten hier in der für Saccharomycessporen gewöhnlichen Weise, indem ein Anschwellen mit darauffolgender Sproßbildung stattfand[1]), und es entwickelte sich im Moste eine Bodensatzhefevegetation, welche sich in keiner Beziehung von dem gewöhnlichen Bilde der ellipsoïdischen Weinhefe unterscheiden ließ. Im Moste trat gleichzeitig eine deutliche Gärung ein. Auch in Malzwürze wurde von diesen Zellen eine deutliche Gärung erregt.

Die Zellen dieser Bodensatzvegetation wurden auf feuchte Gipsblöcke übertragen; im Laufe von 2 Tagen, bei 25° C, wurde hier eine typische Saccharomyces-Sporenbildung hervorgebracht. Diese Sporen sind in gewissen Beziehungen von den Sporen im Schimmelstadium verschieden. Ich bin im Begriffe, eingehende Untersuchungen nach dieser Richtung hin vorzunehmen.

Auf intakte sterile Trauben sowie auf die verschiedenen Gelatinen ausgesäet gaben die Saccharomyces-Zellen aus dem

---

1) cfr. **Reefs**, **Botanische Untersuchungen über die Alkoholgärungspilze. 1870 und Hansen, Comptes rendus du Lab. de Carlsberg. Vol. III. 1891.**

Moste nur neue sproß- und sporenbildende Generationen.

Wenn aber die einzelnen oben an den Mycelienfäden des Schimmelpilzes befindlichen 4-eckigen, nicht sporenbildenden Glieder, welche sich durch Schütteln in Wasser isolieren ließen, in Most eingeführt wurden, so trat hier eine Mycelienvegetation ein.

Wenn die aus dem Dematium- oder Chalara-artigen Mycelium entwickelten hefeähnlichen Zellen in Most oder auf festes Substrat übertragen wurden, entwickelten sie, wie oben erwähnt, hefenähnliche Zellen bezw. ein Mycelium.

Nach allem, was ich bisher gesehen habe, müssen wir also das Saccharomyces-Zellenstadium als außerhalb des eigentlichen Entwickelungscyklus der Art liegend betrachten. Die Dematium-Konidien-, die Chalara-Konidien- und die Oïdium-ähnlichen Glieder der oberen Teile des Myceliums entwickeln Torula-ähnliche Zellen oder ein Mycelium, welches je nach der Beschaffenheit des Substrates unter dieser oder jener Gestalt auftritt; aber die letzte Zellengeneration der Pflanze entwickelt sich als endogen Sporen bildend, und die aus diesen Individuen entwickelten neuen Generationen treten nur als Weinhefen-Saccharomyces-Zellen auf, ohne vorher die Schimmelstadien durchzumachen.

Was Pasteur, Laurent, Costantin, Sanfelice und zahlreiche andere Forscher in dieser Richtung gesehen haben, ist also nur das erste Stadium der Entwickelung solcher Schimmelpilze; dieses Stadium giebt, wie oben bemerkt, nur Schimmel- und Torula-Vegetationen, nicht aber Weinhefen. Die Art muß zwei neue Entwickelungsstufen durchmachen, um als Saccharomyces-Weinhefe auftreten zu können. Die „Dematium-levûre" Pasteur's in seinen Kulturen [1]) besteht, insoweit dieselbe mit Dematium zu thun hat, aus den isolierten sproßbildenden Gliedern des Schimmelstadiums, welche oft eine täuschende Aehnlichkeit mit einem pastorianen Saccharomyces haben können. De Bary [2]) hat dagegen, wie bekannt, hervorgehoben, daß die von ihm als Dematium pullulans beschriebene Form keine Alkoholgärung errege. Das nachfolgende höhere Stadium der Entwickelung dieser Arten ist es, welches diese Eigenschaft erreicht.

Meine anatomischen Untersuchungen der Vegetation auf dem natürlichen Substrate, den Trauben, haben also zu folgendem Resultate geführt, welches sich durch kontrollierende Experimente mit 1-Zellenkulturen auf sterilen Trauben bestätigt hat.

Die auf den Trauben auftretenden Dematium- bezw. Chalara-artigen Schimmelpilze entwickeln durch eine Reihe von allmählichen Uebergangsformen zuletzt Vegetationen, welche bisher unter dem Namen Sac-

---

1) Études sur la Bière. pl. X etc.

2) Morphologie und Physiologie der Pilze etc. p. 183. Vergl. Morph. u. Biol. d. Pilze. p. 292 ff.

charomyces ellipsoïdeus, der eigentlichen Weinhefe, beschrieben wurden.

Für diese hierhergehörigen Saccharomyceten ist also jetzt ihre Stellung im Systeme mit Sicherheit festgestellt worden.

Die zweite Frage, welche zu stellen war, war die, ob der oben beschriebenen Beobachtung allgemeine Bedeutung zuerkannt werden müsse, oder ob wir hier bloß einer vereinzelten Thatsache gegenüberstehen, — oder in anderen Worten, ob diese Dematium-ähnlichen Schimmelpilze allgemein verbreitet auf den Trauben seien.

Mit diesem Zwecke vor Auge habe ich zahlreiche Trauben aus verschiedenen Ländern und ebenfalls mir in Briefen zugesandtes Schimmelmaterial untersucht.

Mein Resultat ist, daß ich auf keiner einzigen Traube diese Dematium-ähnlichen Pilze vermißt habe.

Hiermit bekommt die Beobachtung allgemeine Bedeutung.

Zugleich mit den oben beschriebenen Untersuchungen habe ich eine Reihe der auf dem Weine auftretenden Aspergillus- und Sterigmatocystisarten in Bezug auf deren diastatische Wirksamkeit behandelt. Es hat sich auch hier herausgestellt, daß sämtliche gefundene Arten ein diastatisches Ferment besitzen, welches unter günstigen Verhältnissen die Stärke mit großer Kraft angreift, wonach ihre Konidien in Hefezellen umgewandelt werden, welche eine Alkoholgärung hervorrufen. Gegenwärtig bin ich mit der Untersuchung der natürlichen Verhältnisse, unter welchen diese bemerkenswerte Umbildung geschieht, beschäftigt. Soweit ich schon jetzt beurteilen kann, muß der Weg hier der gleiche bleiben, wie in dem zuerst genannten, ausführlich behandelten Falle, nämlich eine direkte botanische Untersuchung der auf dem natürlichen Substrate vorliegenden Vegetationen. Dann erst muß das Experiment hinzutreten.

Es ist mir teure Pflicht, hier öffentlich den Vielen, welche mir freundlichst Material für diese Arbeiten lieferten, meinen ergebenen Dank abzustatten, und zwar besonders den Herren Prof. Dr. Roeßler, Klosterneuburg und Prof. Dr. Wortmann, Geisenheim.

Kopenhagen, Februar 1895.

Ueber die Umbildung des Aspergillus Oryzae in einen Saccharomyceten.

Von

John J. Juhler (U. S. of A.).

Im November 1892 wurde ich aufgefordert, mich nach Peoria, Illinois, zu begeben, um mich dort mit dem von dem Japanesen Jokischi Takamine späterhin patentierten Verfahren zum Vermalzen und eventuell Vergären von Stärkestoffen bekannt zu machen, und beauftragt, über dessen Anwendbarkeit in der Industrie zu berichten. Ich

erhielt dadurch Gelegenheit, zu sehen, wie die in Japan allgemein benutzte Methode zur Herstellung von Saké aus Reis modifiziert worden war, um auch benutzt werden zu können, wenn das Wachstum und die Entwickelung der benutzten Schimmelpilze ein anderes war. Die Bestrebungen des Erfinders gingen damals besonders darauf aus, der aus Japan mitgebrachten Tane-Koji (Seed-Koji) solche Bedingungen und solche Wuchsbedingungen zu geben, daß die Erzeugung des diastatischen Fermentes befördert würde, da seine Neuerung der Methode eher bezweckte, das Malz in der Spiritusfabrikation zu ersetzen, als die ganze japanesische Vermalzungs- und Vergärungsmethode in neumodischen Brennereien einzuführen.

Es wurde gleichzeitig in Aussicht gestellt, daß außer den Ersparnissen, die die Substitution des Malzes durch Koji-Diastase mit sich bringt, noch andere ebenso bedeutende Ersparnisse durch Einführung des japanesischen „Moto“ oder Hefe in den Dienst der Industrie zu erwarten seien, indem derselbe ein höheres Alkoholprozent vertragen könnte und somit auch besonders gut für konzentrierte Maische passen würde. Ich bekam auf diese Weise Gelegenheit, Vergärung mit Moto im kleinen Maßstabe in einem Topfe zu sehen, und auf gestellte Anfrage, woher diese Hefe stamme, wurde mir mitgeteilt, daß solche immer vorhanden sei, wenn die Vorschrift der Zubereitung von Moto befolgt werde. Unter den vielen interessanten Thatsachen war es letztere, die meine Aufmerksamkeit am meisten fesselte, und ich faßte den Entschluß, dies Verhältnis gelegentlich näher zu untersuchen. Ich verließ Peoria, von dem, was ich gesehen hatte, sehr befriedigt und zugleich im Besitze einer Probe des Tane-Kojis, eines grünen Pulvers, das der Ausgangspunkt der japanesischen Gärungsindustrie ist.

Als sich später während meines Aufenthaltes in Kopenhagen Gelegenheit darbot, die mitgebrachte Tane-Koji näher zu untersuchen, verwendete ich einige Zeit darauf, das mitgebrachte Material rein zu kultivieren und fand dann, daß es wesentlich aus Sporen von drei verschiedenen Schimmelarten bestand, und zwar aus:

einem weißen Schimmel, der dem von Calmette beschriebenen Amylomyces Rouxii ähnlich sieht,
einer Mucorart und schließlich
einem Aspergillus, welcher zweifelsohne der von Cohn beschriebene Aspergillus Oryzae ist.

Da meine Untersuchungen auf diesem Stadium hauptsächlich den Zweck hatten, zu bestimmen, welchem dieser Schimmelpilze die Diastasebildung vorzugsweise zu verdanken sei, stellte ich mit jedem einzelnen in Reinkultur auf passendem Substrate, und zwar auf Reis Versuche an; aus diesen ging bald hervor, daß Aspergillus Oryzae die Stärke schnell verzuckerte und daß derselbe in dieser Hinsicht die beiden anderen weit übertraf. Ich beschränkte demnächst meine Experimente darauf, die Verhältnisse hinsichtlich des Substrates und der Lebensbedingungen zu bestimmen, unter welchen sich das diastatische Ferment am besten aus Aspergillus Oryzae erzeugen ließ, und erwies, daß dessen Bildung aus den im Substrate befindlichen Eiweißstoffen im genauesten Zusammenhange mit der

Bildung des Myceliums steht und von der Geschwindigkeit abhängig ist, womit Neuwuchs stattfindet.

Alle diese Versuche waren ausgeführt durch Beobachtungen mit dem Mikroskope und wurden vorgenommen mit Reinkulturen der Pflanze in der feuchten Kammer und auf sterilisiertem Materiale; ich war somit imstande, die Pflanze in ihrer Entwickelung aus der einzelnen Konidie, dem Wachstum des Myceliums und der Fruktifikation bis zur Massenkultur reinkultivierter Konidien auf sterilem Substrate zu folgen und die Verhältnisse zu beherrschen hinsichtlich der Temperatur, Luftzufuhr, Feuchtigkeit, Beeinflussung des Tageslichtes etc., die die Entwickelung der Pflanze bedingen, und von welchen es abhängt, in wie kräftiger Wechselwirkung der Organismus zu seinen Umgebungen steht.

Dadurch, daß ich in der Weise das Keimen und Wachstum des Pilzes auf verschiedenartigem Substrate und unter variierenden Umgebungen verfolgte, stellte es sich heraus, daß bei passender Temperatur eine reichliche Zufuhr von Luft es stets mit sich brachte, daß die reifen Konidien ein Mycelium entwickelten; wenn indessen das Substrat besonders stärkehaltig sei, so daß es, von dem durch den Neuwuchs hervorgebrachten diastatischen Fermente beeinflußt, verzuckert und fließend wurde, so änderten die Konidien, die in die Flüssigkeit hinuntersanken und dadurch vom Zutritt der Luft ausgeschlossen wurden, nach und nach — unter der Voraussetzung, daß die anderen Bedingungen fortdauernd günstig waren — ihr Aussehen; statt rund und mit rauher Oberfläche zu sein, wurden sie länglich mit glatter Oberfläche; während sie früher undurchsichtig waren, wurden sie jetzt in allen Uebergangsstadien durchsichtig — kurz gesagt: statt Konidien zu sein, die als solche wachsen und gedeihen, wurden sie Hefenpilze, die alle die Eigentümlichkeiten zeigen, die den Saccharomyceten kennzeichnen (vergl. meine Anmeldung in dieser Zeitschrift. 1895. No. 1).

Meine Versuche, den entgegengesetzten Weg zu gehen und aus der neugebildeten Hefenzelle wieder einen Aspergillus hervorzubringen, haben bis jetzt noch keinen Erfolg gehabt; doch hege ich die berechtigte Hoffnung, daß mir dies noch gelingen wird. Ich habe ebenfalls die Erwartung, daß eine nicht ferne Zukunft Beweise dafür erbringen wird, daß dies Verhältnis bei Aspergillus Oryzae bei weitem nicht alleinstehend ist, sondern vielen Schimmelpilzen gemein ist, die auf reifenden Früchten wachsen, und daß sie und ihre Umwandlungsprodukte im Substrate die Transformation ihrer Sporen in die auf den reifen Früchten später vorkommenden Hefenpilze mit sich führen. Wenn es sich durch fortgesetzte Untersuchungen herausstellt, daß dies Verhältnis allgemein ist, wird hierdurch nicht allein aufgeklärt sein, warum der Hefepilz immer da ist, wenn derselbe auf der reifen Frucht erforderlich ist, sondern gleichzeitig damit ein Verfahren zur Herstellung von neuen Varietäten von Hefenpilzen angegeben sein, dadurch, daß diese bei Umwandlung von reinkultivierten Schimmelpilzen auf sterilem Substrate hervorgehen. Beim Variieren des Substrates und der anderen Lebensbedingungen des Pilzes ist zu erwarten, daß derselbe eine Entwicke-

lung und Vervollkommnung erreichen wird, die man bis jetzt nicht gekannt, und die wieder Eigentümlichkeiten hervorrufen in der Konstitution der Hefenzellen, die von deren Konidien herstammen, bei Umwandlung unter den günstigsten Bedingungen.

8. April 1895.

Ueber Nachweis und Verbreitung der Glukase, das Enzym der Maltose.

Von

Dr. M. W. Beyerinck.

Mit 1 Figur.

(Fortsetzung und Schluß.)

Kapitel III.

Die Glukase.

1. Entdeckung der Glukase durch Cuisinier.

Im Jahre 1885 hat Léon Cuisinier sich ein Verfahren patentieren lassen zur Darstellung von „Cerealose", das ist ein an Glukose sehr reiches Präparat aus Getreidemehl vermittelst eines neuen Enzyms, welches er Glukase genannt hat. Zu diesem Zwecke wird das Mehl nach bekannten Methoden durch Diastase saccharifiziert, daraus wird ein Maltosesyrup bereitet und dieser der Wirkung der Glukase anheimgestellt, wodurch die Maltose sich in Glukose verwandelt. Er verwendet dazu einen kalten Auszug von eingeweichten, ungekeimten, gequetschten Maiskörnern, worin sich das neue Enzym vorfindet. Er beschreibt sein Verfahren wie folgt [1]):

„Das Brevet bezweckt die Darstellung einer zuckerartigen Substanz, die Cerealose, welche mit der Rohglukose nahe übereinstimmt. Die Cerealose ist das Produkt der Verzuckerung des Getreides durch die Wirkung einer neuen Diastaseart, die Glukase, welche der Patentnehmer entdeckt hat sowohl in eingeweichten Getreidekörnern, wie in deren Einweichwässern.

Die Glukase wirkt nicht allein: um Stärke zu verzuckern, wird die Gegenwart von etwas Malz gefordert, dessen verflüssigende Wirkung der ausschließlich verzuckernden Wirkung der Glukase kompletiert [2]).

Man verfährt jedoch bei der Cerealosebereitung derweise, daß der Bildung von Kleister vorgebeugt wird; die rohe Stärke wird höchstens bis nahe an die Verkleisterungstemperatur erhitzt und

---

1) Brevet No. 171958, pris le 30 Octobre 1885 par le sieur Léon Cuisinier pour „Une nouvelle matière sucrée diastasique la Céréalose et pour sa fabrication". (La sucrerie indigène et coloniale. T. XXVII. 2 Mars 1886. p. 241.)

2) Diese Auffassung Cuisinier's ist, wie schon angegeben, nicht völlig in Uebereinstimmung mit den Thatsachen.

dann der Einwirkung des neuen Enzyms anheimgestellt. Immer ist die Folge davon, daß die behandelten Substanzen länger maceriert werden müssen, jedoch ist diese längere Dauer der Einwirkung unumgänglich zur Sicherung des Resultates.

Wird der Mais als Beispiel gewählt, so sind die Operationen für die Fabrikation der Cerealose die folgenden:

1) Einweichung der Körner in kaltem Wasser während zwei oder drei Tagen.

2) Zerquetschen der Körner und Behandlung dieses Mehles mit lauem Wasser.

3) Schnelle Erhitzung der flüssigen Masse bis auf 67° C, unter Hinzufügung von im Maximum 10 kg Grünmalz auf 100 kg trocken verarbeiteten Mais.

2) Schnelle Abkühlung auf 62° C, aktiviert durch Hinzufügung des kalten Wassers an die Maische, womit die Körner eingeweicht sind.

5) Maceration während 108 Stunden bei 62° C.

Die Maische soll 20 à 25 kg Mais pro Hektoliter Maischraum enthalten; in diesem Zustande verändert sich die Masse bei 62° C nur schwierig; wünscht man sich aber gegen alle schädlichen Einflüsse, z. B. während der warmen Saison, zu sichern, so würde es genügen, die Maische mit Chloroform oder mit Chlormethyl, nach bekannten Verfahren bereitet, zu vermischen.

6) Ausscheidung der Treber in Filterpressen.

Man wird dabei ein sehr leichtes Filtrieren bemerken; dieses erklärt sich durch die Abwesenheit des Kleisters während der verschiedenen Phasen der Fabrikation.

Die Treber enthalten noch Stärke, welche daraus extrahiert wird, durch Einwirkung von Malz auf die unter Druck gekochte Masse, nach den gewöhnlichen Prinzipien der Fabrikation des Maltosesyrups.

7) Konzentration des Saftes auf 40° Baumé und Krystallisation durch Hineinwerfen eines Stückes gewöhnlicher Glukose. Es entsteht dann in wenigen Stunden ein halbfester Cerealosesyrup mit 28 Proz. Wasser; diese angenehm süße Masse ist beinahe ausschließlich gärungsfähiger Zucker. Cerealosewürzen vergären vollständig wegen deren Reichtum an Hefenahrung und sie empfehlen sich durch ihre Zusammensetzung, um den Alkoholreichtum des Bieres und anderer alkoholischen Flüssigkeiten zu erhöhen."

Von einem sehr reichen, nach diesem Verfahren dargestellten Syrup wurde die Zusammensetzung wie folgt gefunden:

Wasser . . .	18,00	Proz.
Glukose . . .	60,15	"
Maltose . . .	1,40	"
Dextrin etc.	20,45	"

In demselben Journal, worin das Patent aufgenommen ist, giebt Cuisinier die folgende nähere Begründung seiner Entdeckung[1]):

1) La Glucase et la saccharification glucosique des matières amylacées. (La sucrerie indigène et colon. T. XXVII. 1886. p. 226.)

„Die so oft beschriebenen Eigenschaften der Malzdiastase genügen nicht zur Erklärung der Stärkeumsetzung in den Pflanzen und besonders in den Samen; Thatsache ist, daß, wenn man den löslichen Teil von Gersten- oder Maismehl analysiert, der darin vorkommende Zucker der Hauptsache nach aus Dextrose besteht.

Wie soll man nun, wenn die Bildung dieses Zuckers der Wirksamkeit der Diastase des Kornes zugeschrieben wird, die Gegenwart von Glukose erklären, aus der wohlbekannten Eigenschaft dieser Diastase die Stärke in Maltose und Dextrin umzuwandeln? Diese Frage haben wir uns seit langer Zeit gestellt.

Entweder muß man annehmen, daß die Maltase auf nicht verkleisterte Stärke anders einwirkt wie auf verkleisterte, oder daß in den lebenden Samen noch ein besonderes Enzym vorkommt, welches imstande ist, Glukose zu erzeugen. Die Untersuchungsresultate haben uns von der Richtigkeit der letztgenannten Ansicht überzeugt.

Wenn man, unter Entfernung der Ursachen für Veränderung durch organisierte Fermente, gequetschtes und in Wasser verteiltes Grünmalz unterhalb der Verkleisterungstemperatur, nämlich bei 40° à 50° C, sich selbst überläßt, so wird man finden, daß eine allmähliche Lösung der Stärke stattfindet, und daß, wenn die Umsetzung vollständig ist, bei der Analyse in der Flüssigkeit nur Dextrose gefunden wird [1]).

Bei diesem Versuche ist die Verflüssigung der Stärke sehr viel langsamer, als wenn man vorher verkleistert, und dann Malz einwirken läßt, doch ist die Verzuckerung darin viel kräftiger.

Wenn wir anstatt gequetschten Malzes nicht gekeimtes Getreide verwenden, so werden wir bei ähnlicher Versuchsanstellung ebenfalls nur Dextrose antreffen; doch ist die Auflösung der Stärke beim ungekeimten Getreide viel langsamer wie beim gekeimten; um dieselbe ebenso leicht zu machen, genügt es, ein wenig gequetschtes Malz zuzusetzen.

Durch die vorhergehenden Versuche kann man auf die Präexistenz eines glukoseerzeugenden Fermentes schließen, die Glukase, in den Körnern vor der Keimung und auf die Entstehung einer verflüssigend wirkenden Diastase, die Maltase [2]), durch die Keimung.

Unsere Untersuchungen befestigen diesen Schluß und haben uns überdies auf die Entdeckung der Glukase in den Organen geführt und besonders in den Samen einer großen Anzahl von Pflanzenarten, gleichgiltig, ob diese Samen Stärke enthalten oder nicht.

Die Glukase, wenig entwickelt in den trockenen Körnern, entwickelt sich durch das Einweichen; man findet dann, daß die Glukase zwar in dem Einweichwasser vorkommt, jedoch hauptsächlich in den geweichten Samen selbst zurückbleibt.

Es blieb nun noch übrig, festzustellen, welche Rolle die Form der Stärke auf die Glukosebildung ausübt. Zu diesem Zwecke haben wir mit Stärkekleister unter den folgenden Umständen gearbeitet:

---

1) Hiermit sind unsere Erfahrungen nicht im Einklange.

2) Cuisinier gebraucht hier das Wort „Maltase“ in einem anderen Sinne wie im gegenwärtigen Aufsatze.

Wir haben beobachtet, daß, wenn wir bei einer Temperatur unterhalb 60° C ein Gemisch von Kleister und eingeweichtem Maismehle sich selbst überlassen, nur eine unbedeutende Verflüssigung des Kleisters stattfindet.

Wird demselben Gemische unter gleichen Bedingungen viel Malz zugegeben, so verflüssigt der Kleister bald, doch entsteht hauptsächlich nur Dextrin und Maltose.

Wenn aber nur sehr wenig Malz zugesetzt wird, so findet die Verflüssigung langsam statt und ergiebt eine reichhaltige Dextroselösung.

Aus diesen Versuchen sieht man, daß es für die Glukosebildung geeignet ist, nur wenig Malz zu gebrauchen, man aber diese Art der Verzuckerung sowohl mit roher Stärke wie mit verkleisterter erreichen kann.

Eine charakteristische Eigenschaft der durch Glukoseverzuckerung erhaltenen Würzen ist die Leichtigkeit, womit der Zucker auskrystallisiert, wenn zu dem bis auf 40° Baumé eingedickten Safte ein Stück gewöhnlicher Glukose zugesetzt wird. Die so erhaltene Masse besteht beinahe ausschließlich aus gärungsfähigem Zucker mit 1 oder 2 Proz. Dextrin; wir werden Gelegenheit haben, bald auf die Zusammensetzung dieses neuen Zuckers zurückzukommen.

Die Entdeckung der Glukase wirft einiges Licht auf manche Fragen, welche zusammenhängen mit der Vergärung roher Stärke bei Gegenwart von Malz und Bierhefe.

Paris, 25. Februar 1886."

Ich habe Cuisinier's Angaben wörtlich übersetzt, nicht nur wegen ihres reellen Interesses, sondern auch um die vorhin in diesen Seiten vorgeführten, von denjenigen von Cuisinier abweichenden Erfahrungen deutlich zu betonen. Besonders Cuisinier's Behauptung von der allgemeinen Verbreitung der Glukase hat sich, wenigstens für die höheren Pflanzen, wie unten gezeigt werden soll, nicht recht bestätigt. Doch kommt das Enzym sehr allgemein bei Schimmelpilzen vor.

2. Darstellung der Rohglukase nach Géduld.

Im Jahre 1891 erschien im Journal de la Distillerie Française eine Arbeit von Géduld, welche im Laboratorium von Jules Cuisinier ausgeführt war und worin sowohl ein Verfahren zur Bereitung des Enzyms wie eine nähere Beschreibung von der Einwirkung desselben auf Stärke, Dextrin und Maltose gegeben wird. Ich muß den Inhalt dieser Arbeit als bekannt voraussetzen, wozu das ausführliche Résumé von Windisch[1]) noch besondere Veranlassung giebt. Für meinen Zweck genügt es, darauf hinzuweisen, daß Géduld sichergestellt hat, daß die durch die Glukase erzeugte Zuckerart wirklich Glukose ist, was durch Cuisinier noch einigermaßen zweifelhaft gelassen war, und ferner, daß

---

1) Ueber ein neues Enzym: die Glukase. (Wochenschr. f. Brauerei. Jahrg. VIII. 1886. No. 19. p. 545. No. 20. p. 568. No. 22. p. 618.)

die optimalen Bedingungen für die Glukasewirkung nahezu dieselben sind, wie für die Malzdiastase [1]).

Bei der Darstellung meiner eigenen Glukasepräparate habe ich Géduld's Vorschrift so genau wie möglich befolgt, gelangte jedoch in einigen Nebensachen auf etwas anderem Wege zu einem besseren Resultate. Ich will hier einen meiner Präparationsversuche genau beschreiben.

Durch meine Kahmpilzmethode zum Nachweise der Glukase hatte ich gefunden, daß dieses Enzym in den ungekeimten Maiskörnern hauptsächlich im hornartigen Teile des Endosperms vorkommt, während der mehlige Teil desselben sowie der Embryo viel weniger Glukase enthalten. Ferner fand ich, daß Géduld's Vorschrift, die Körner vor der Zerkleinerung ein bis zwei Tage einzuweichen, entschieden verwerflich ist, weil dabei ein wenig Maismalzgranulase entsteht, welche nicht gut von der Glukase getrennt werden kann. Ich verfuhr daher wie folgt:

Sechs Kilo trockenen, großkörnigen, gelben, amerikanischen Maises wurden zwischen Walzen grob gemahlen. Das Sortieren durch Sieben wurde mit viel Aufmerksamkeit überwacht, so daß sowohl die Schalen wie die Keime und das staubfein gemahlene mehlige Endosperm sehr vollständig entfernt wurden. Dadurch gelang es schließlich, $3^1/_2$ kg einer sehr gleichmäßigen, aus glasigen, scharfeckigen, hornartigen Endospermteilchen zusammengesetzten Masse zu bekommen [2]). Diese wurde dann extrahiert mit 5 l destillierten Wassers, wozu 500 cm^3 Alkohol von 96 Proz. und 2 g Weinsäure gesetzt waren, und zwar bei 15° à 20° C. Nach 30 Stunden war keine Spur von Bakterienwachstum bemerkbar und es wurde filtriert nach Delbrück's Methode [3]), wobei $4^1/_2$ l eines wasserklaren Filtrates erhalten wurde, welches F_1 genannt werden soll. Dieses wurde durch Vermischen mit dem gleichen Volum Alkohol von 96° unvollkommen präzipitiert, wobei ein Niederschlag D_1 und ein Filtrat F_2 erhalten wurden, es ist also

$$F_1 = F_2 + D_1.$$

Das Filtrat F_2 wurde dann durch Alkohol in Uebermaß vollständig präzipitiert, wobei ein Filtrat F_3, welches weggeworfen wurde, und ein Präzipitat D_2 entstanden, also

$$F_2 = F_3 + D_2$$
$$\text{und } F_1 = D_1 + D_2.$$

Es waren auf diese Weise aus dem ursprünglichen Filtrate F_1 also zwei Rohglukasepräparate D_1 und D_2 erhalten. D_2 wurde abgepreßt, getrocknet und pulverisiert und für Enzymversuche verwendet.

D_1 wurde dagegen noch einmal fraktionniert. Dazu wurde das

---

2) Géduld's Beobachtungen über Maisglukase wurden aufs neue bestätigt durch Morris in „Transactions of the Institute for Brewing". March 1893. Zu vergl. Windisch, „Ueber die Glukase". (Wochenschr. f. Brauerei. Jahrg. X. p. 365.) Das Original war mir nicht zugänglich.

1) Es wäre richtig gewesen, diese Masse fein zu mahlen, weil die Glukase sehr schwer löslich ist und schwierig diffundiert. Doch habe ich das damals versäumt.

2) Maerker, Spiritusfabrikation. 5. Aufl. 1890. p. 131.

noch teigige Präzipitat mit destilliertem Wasser, welches 0,4 g Weinsäure pro Liter und etwas Alkohol enthielt, in Ueberschuß versetzt. Die Masse löst sich auch bei langem Stehen und Schütteln nur sehr unvollständig und giebt beim Filtrieren einen unlöslich zurückbleibenden Teil D_3 und ein Filtrat F_4. Dieses letztere wird dann mit Alkohol im Ueberschuß vollständig präzipitiert, wobei D_4 erhalten wird. D_3 und D_4 werden dann ebenfalls bei 65 ° C getrocknet und pulverisiert. Auf diese Weise wurden die sämtlichen aus dem Maisendosperm mit dem verdünnten Alkohol extrahierten Stoffe in der Form von drei Präzipitaten D_2, D_3 und D_4 von verschiedener Löslichkeit erhalten. Hiervon hat sich D_3, welches am wenigsten löslich ist, trotzdem als das glukasereichste ergeben. Auch fand ich, daß, wenn ich das Fraktionnieren derweise ausführte, daß ich aus dem ursprünglichen Filtrate durch unzureichende Alkoholzusetzung hinter einander drei Präzipitate absonderte, keines davon so wirksam war wie D_3, und darum habe ich eben die beschriebene Darstellungsweise als Beispiel für das beste Präparierverfahren angeführt.

Es ist klar, daß die nach diesem Verfahren bereiteten Glukasepräparate durchaus nicht als reine betrachtet werden können und daß es selbst schwierig ist, die Natur der Verunreinigungen genauer anzugeben. Man könnte meinen, es würde darin viel Dextrin vorkommen, doch muß ich demgegenüber bemerken, daß die Glukase die Dextrine angreift und in Glukose überführt, so daß die ziemlich lange Dauer der Präparation schon ein Grund ist, weshalb sich der Gehalt an Dextrinen vermindern muß. Auch der Peptongehalt kann in meinen Präparaten, z. B. in D_3, nicht besonders groß sein, denn wenn aus dem bei 100 ° C getrockneten Pulver der Stickstoff nach Kjeldahl bestimmt und daraus der Eiweißgehalt durch Multiplikation mit 6,25 berechnet wird, so ergiebt sich für

	Stickstoff	Eiweiß
D_2	4,78 Proz.	29,87 Proz.
D_3	1,11 „	6,96 „
D_4	2,20 „	13,75 „

Reduktionsfähige Körper finden sich in den Präparaten nicht. Ich glaube deshalb, daß die Körper, welche die Enzyme darin begleiten, hauptsächlich neben Eiweißkörpern Pflanzenschleim sein müssen. Vergleicht man die zuckerbildende Kraft der drei Präparate, so ergiebt sich, daß dieselbe bei D_3 etwas stärker ist wie bei den beiden anderen, wenn auch die Differenz nicht besonders groß ist. Merkwürdigerweise ist aber der Stickstoffgehalt gerade von D_3 am geringsten, so daß es deutlich ist, daß entweder der Gehalt von allen diesen Präparaten an reinem Enzym, vorausgesetzt, daß dieses ein stickstoffhaltiger Körper ist, sehr gering ist, oder daß das Enzym stickstofffrei ist und sich gerade in D_3 besonders angehäuft vorfindet. Ich meinerseits neige zur ersteren Ansicht, d. h. ich glaube, daß die amylolytischen Enzyme stickstoffhaltige Körper sind und in unseren Präparaten nur in verschwindend geringer Menge angehäuft sind.

3. Nachweis von vorübergehender Dextrin- und Maltosebildung aus löslicher Stärke durch Glukase.

Géduld bestimmte die Wirksamkeit seiner Glukasepräparate aus der Drehungsabnahme für das polarisierte Licht, sowie aus der Veränderung im Kupferreduktionsvermögen, welche eine Maltoselösung von bekanntem Gehalte erfährt. Zur Bestimmung der Einwirkung auf Dextrin und Stärke befolgt er ein kombiniertes Verfahren, wobei Drehung und Reduktion bestimmt werden vor der Einwirkung der Glukase, nach der Einwirkung des Enzyms, und nachdem der gebildete Zucker durch Hefe vergoren ist. Durch Krystallisierenlassen des aus Maltose erhaltenen Zuckers hat er sich überzeugt, daß es sich dabei nur um Dextrose handeln kann. Ich will hinzufügen, daß auch ich reine Maltoselösungen durch meine Glukasepräparate umgewandelt, und daraus den Zucker nahezu quantitativ als krystallisierte Glukose zurückerhalten habe. Es kann deshalb als allseitig festgestellt betrachtet werden, daß das Produkt der Einwirkung der Glukase auf Maltose sicher allein Glukose ist. Andererseits wurde oben schon vorgreifend bemerkt, daß die Glukase, wenn auch sehr langsam, aus löslicher oder gekochter Stärke vorübergehend Dextrin zu erzeugen vermag, welches jedoch seinerseits bei Fortdauer der Glukaseeinwirkung in Glukose übergeht. Soviel steht fest, daß alle von mir untersuchten Dextrine durch Glukase zersetzt werden, und zwar viel schwieriger wie Maltose, daß sie jedoch viel leichter in Glukose übergehen, wie lösliche oder verkleisterte Stärke. Frische Stärkekörner werden, außerhalb der Pflanzen, ebensowenig durch Glukase angegriffen wie durch Diastase. Auch Inulin wird durch Glukase durchaus nicht verändert. Für den Nachweis der Glukase in sehr geringen Mengen, z. B. wenn es sich darum handelt, die Gegenwart dieses Körpers in vereinzelt vorliegenden Pflanzensamen anzuzeigen, können weder das polarisierte Licht, noch die Kupferreduktion in Betracht kommen. Dagegen hat sich ergeben, daß in solchen Fällen die auxanographische Methode zum Ziele führen kann.

Dieses trifft ebenfalls zu in Bezug auf den Nachweis von Dextrin bei gleichzeitiger Gegenwart von Maltose und Glukose oder von beiden. Dazu erfordert die in Kapitel I beschriebene Untersuchungsmethode jedoch eine Erweiterung, zu deren Darstellung ich nun übergehe.

Während Maltose durch Glukase quantitativ in Glukose übergeführt wird, entsteht bei der Einwirkung von Glukase auf lösliche Stärke vorübergehend eine Dextrinart, welche jedoch durch das Enzym selbst zu Glukose zerlegt wird und sich deshalb leicht der Beobachtung entzieht.

Durch das Diffusionsverfahren mit gewissen Hefearten als Reaktiv läßt sich die Gegenwart des genannten Körpers anzeigen, und zwar auf folgende Weise:

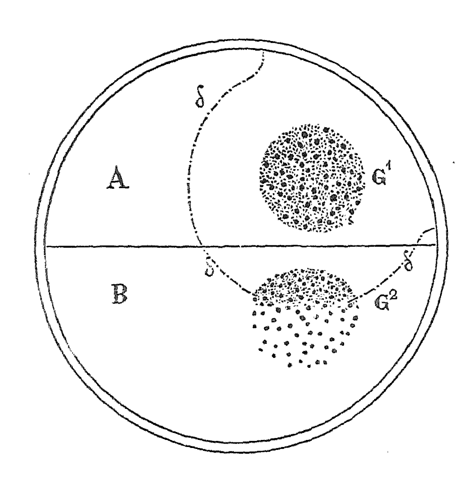
In einer Glasdose wird eine Gelatineplatte angefertigt, welche aus zwei verschiedenen Hälften besteht. Der eine Teil A (vergl. Figur) hat folgende Zusammensetzung:

10 Proz. Gelatine,
$^1/_2$ „ lösliche Stärke,
$^1/_4$ „ Asparagin,
$^1/_{20}$ „ Kaliumphosphat.

Vor dem Erstarren war S. ellipsoideus, oder irgend eine andere nicht auf Dextrin reagierende, aber mit Asparagin als Stickstoffquelle gut wachsende Maltosehefe untergemischt.

Der andere Teil B hat dieselbe Zusammensetzung, nur daß daraus die lösliche Stärke fortgelassen ist.

Als Weinhefe habe ich die aus jungem Rotwein isolierte Form verwendet. Bier- und Preßhefe sind weniger geeignet, weil deren Wachstum durch den Druck der Gelatine etwas gehemmt wird, was bei Weinhefe nicht der Fall ist.



Das Eingießen in die Dose geschieht derweise, daß diese für das Aufnehmen von der Gelatine A zunächst schief gestellt und erst, wenn die Gelatine durch die Abkühlung zu dickflüssig geworden ist, um sich weiter auszubreiten, horizontal gestellt wird. Die Gelatine B kann dann ohne weitere Fürsorge auf die noch leere Bodenhälfte gegossen werden, wobei auf ein gutes Zusammenfließen an der Trennungslinie zwischen A und B geachtet wird. Die lösliche Stärke bleibt auf A beschränkt, weil nicht diffusionsfähig.

Es wird nun in geringer Entfernung von einander sowohl auf A wie auf B ein wenig Glukasepulver aufgestreut [1]).

Da sich in A aus der löslichen Stärke, so weit die Glukase einwirkt, Glukose bildet, so muß auf gewöhnliche Weise dort ein Ellipsoideusauxanogramm [2]) entstehen. Wenn jedoch dabei noch ein anderer Körper entsteht, z. B. eine diffusionsfähige Dextrinart, welche nicht durch S. ellipsoideus absorbiert wird, so kann dieser Körper sich durch Diffusion in den als B bezeichneten Teil der Gelatineplatte hineinbewegen. Da sich darin aber eine Maltosehefe vorfindet, welche auch mit Glukose ausgezeichnet wächst, jedoch nicht mit Dextrin, so muß unter dem auf B liegenden Glukasepulver ein Auxanogramm entstehen, wenn der betreffende Körper bis zu dem Bezirke der Glukase fortdiffundiert und hier in Glukose verwandelt wird. Auf diese Weise hat nun die Erfahrung für die Ansicht entschieden, daß die Glukase vorübergehend Dextrin erzeugt. Bei der

1) In der Figur durch grobe Punktierung angegeben.
2) In der Figur durch feine Punktierung angegeben.

beschriebenen Versuchsanstellung war zu erwarten, daß das Auxanogramm „Halbmondform“ annehmen sollte, was auch wirklich zutrifft und wohl keiner weiteren Erklärung bedürftig ist.

Dagegen muß ich noch hervorheben, weshalb ich eine Maltosehefe verwende, und nicht gerade wie bei den gewöhnlichen Versuchen zum Nachweis der Glukase S. Mycoderma oder S. fragrans? Dazu giebt der Umstand Veranlassung, daß es sich darum handelt, bei den Versuchen Maltose von Dextrin zu unterscheiden. Wenn sich nun in A und B S. Mycoderma vorfände, so würde sowohl Maltose wie Dextrin bis unter den Glukasefleck in B hineindiffundieren können und darunter ein Mycodermaauxanogramm bilden. Wenn sich in A und B dagegen eine Maltosehefe vorfindet, so wird diese auch außerhalb des Glukasefleckes in Wachstum kommen, wenn Maltose zufließt, dagegen nur unterhalb des Glukasefleckes, wenn eine Dextrinart zufließt, welche, um assimilationsfähig zu sein, zuvor in Zucker (sei es Maltose oder Glukose) umgewandelt werden muß. Da sich nun ergiebt, daß auf dem Wege zwischen den beiden Glukaseflecken kein Wachstum der Maltosehefe bemerkbar wird, so schließe ich, daß jedenfalls Dextrin und nicht Maltose als Nebenprodukt vorübergehend bei der Glukosebildung aus Stärke entsteht. Kaum brauche ich hervorzuheben, daß, wenn der Glukasefleck G^2 durch Malzdiastase ersetzt wird, die Weinhefe darunter ebensogut ein Auxanogramm bildet, nur wird dann das Dextrin in Maltose übergeführt und nicht in Glukose.

Die Frage, weshalb das Dextrin das Glukasefeld G^1 überhaupt verläßt, während dasselbe doch ebensogut von G^1 wie von G^2 in Glukose verwandelt werden kann, muß dahin beantwortet werden, daß allerdings ein Teil des Dextrins wohl unzweifelhaft durch G^1 in Glukose wird übergehen müssen, daß aber ein Teil desselben sich infolge der Gesetze der Diffusion, nach welchen ein Stoff jedem Punkte von geringerer Konzentration zuströmt, sich der Einwirkung von G^1 entziehen muß, um teilweise durch G^2 zersetzt zu werden.

In unserer Figur ist durch einen Zirkel ($\delta\,\delta\,\delta$) die mutmaßliche Grenze des Diffusionsfeldes angegeben, welches das Dextrin bei dem Zustandekommen des unter G^2 ausgebildeten halbmondförmigen Auxanogrammes erzeugt haben muß.

Die Leichtigkeit, womit das durch Glukase erzeugte Dextrin, nicht nur durch dieses Enzym in Glukose, sondern durch andere Amylasearten, wie Maltase und Ptyalin in Maltose übergeführt wird, haben mich veranlaßt, dasselbe oben bei der allgemeinen Besprechung der amylolytischen Enzyme als Maltodextrin für die Charakteristik der verschiedenen Amylasegattungen zu verwenden. Daß der Name des Körpers neuerdings in Isomaltose umgetauft ist, ist bekannt.

Durch das Anbringen einer kleinen Abänderung in der beschriebenen Versuchsanstellung konnte ich zeigen, daß Glukase auch vorübergehend aus Stärke Maltose erzeugt. Dazu wurde wie folgt verfahren:

Anstatt die Hälfte A der Gelatineplatte mit Weinhefe zu beschicken, war dahin Saccharomyces Mycoderma gebracht. B blieb aber wie oben mit S. ellipsoideus gemischt.

Es wurde nun auf A lokal Glukase gestreut, was jedoch auf B nicht notwendig ist.

Da der Kahmpilz als Glukosehefe etwa aus dem Glukasefelde auf A entweichende Maltose frei fortdiffundieren läßt, erreicht diese bald die Grenze zwischen A und B, geht in B über und findet hier die Ellipsoideushefe, welche als Maltosehefe nun wachsen kann und durch Erzeugung eines zirkelsegmentähnlichen Auxanogrammes, mit der Grenzlinie zwischen A und B als Sehne, die Gegenwart der Maltose anzeigt. Der ganze Sachverhalt scheint mir so klar, daß die Anfertigung einer besonderen Figur überflüssig erschien.

Indem es mir nun obliegt, über die Verbreitung und den Nachweis der Glukase im einzelnen zu handeln, scheint es mir nicht überflüssig, zu bemerken, daß ich hier nur die Beobachtungen mit positivem Ergebnisse berücksichtige. Mit Pulvern und Extrakten von Blättern und Stengelteilen von allerlei Bäumen und Kräutern habe ich Versuche angestellt, welche durchgehends ein negatives Resultat ergeben haben, so daß ich glaube, zu dem Schlusse berechtigt zu sein, daß die Glukase nur wenig verbreitet ist.

4. Verbreitung der Glukase.

a) Allgemeines.

Die Glukase scheint sowohl im Pflanzen- wie im Tierreiche keine sehr ausgedehnte Verbreitung zu besitzen. Inzwischen muß dieses mit einiger Einschränkung behauptet werden, denn die sehr geringe Löslichkeit dieses Körpers kann leicht Veranlassung geben, dessen Gegenwart zu übersehen. Dieses ist besonders deshalb so, weil die Erfahrung lehrt, daß die Eigenschaften der Glukase, wenn man dieselbe nach der für Maismehl angegebenen Vorschrift bereitet, nicht immer in aller Kraft behalten bleiben. So enthält gewöhnliches Reismehl (Oryza sativa) beträchtlich viel Glukase. Als ich aber versuchte, daraus ein reichhaltigeres Präparat anzufertigen, so wurde ich getäuscht, und schließlich bekam ich einen Stoff, welcher zu meiner Ueberraschung ziemlich stark diastatisch auf Stärke wirkte, d. h. daraus Maltose bildete, was ich am Reismehl an sich nicht bemerkt hatte, doch war das Vermögen, Maltose in Glukose umzuwandeln, beinahe gänzlich verloren. Etwas Aehnliches fand ich bei Versuchen aus Hafermehl, welches ebenfalls ziemlich glukasereich ist, dieses Enzym zu bereiten. Die nahe liegende Vermutung, daß die Erscheinung durch eine Umwandlung von Glukase in Granulase erklärt werden kann, entbehrt vorläufig aber noch des Beweises.

Andererseits dürfte das Diffusionsverfahren bei der Verwendung der so leicht beweglichen Maltose, selbst dann, wenn sehr schwer lösliche Glukasepräparate zur Untersuchung kommen, doch nach allem Anscheine zur Auffindung des Enzyms Veranlassung geben. Wenn es mir nun nicht gelingen wollte, weder mit dem Extrakte, noch mit getrockneten und nachher pulverisierten, noch mit den gequetschten und zerriebenen Blättern von Lolium perenne und anderen Gräsern die Glukosereaktion im Mycoderma-Maltoseboden zu erzielen, so muß ich wohl annehmen, daß die Glukase in den gewöhn-

lichen Grasblättern fehlt. Es ist aber sehr leicht, dieselbe in den Blättern der Maispflanze bei gleicher Behandlung nachzuweisen, und aus dem wässerigen Extrakt dieser Blätter habe ich durch Präzipitieren mit Alkohol ziemlich kräftige Glukasepräparate dargestellt; dasselbe gilt für die Maiswurzeln, welche sich als reich an Glukase (und unter Umständen auch an Invertase) ergeben. Ferner habe ich von Blättern untersucht Acer Pseudoplatanus, Deutzia scabra, Quercus pedunculata, Cytisus Laburnum und von zahlreichen anderen Kräutern und Bäumen, alle mit negativem Erfolge. In Keimstengeln von keimenden Erbsen sowie in den Samenlappen derselben konnte ich keine Glukase auffinden, während sich darin sehr leicht Granulase nachweisen läßt, ebenso bei Vicia Faba. Auch in keimenden Datteln habe ich vergebens nach Glukase gesucht; merkwürdigerweise findet sich darin aber auch durchaus keine Diastase und der Prozeß der Celluloselösung im holzigen Endosperm dieser Samen geschieht durch einen noch nicht aufgeklärten Vorgang [1]).

b) Distribution der Glukase im Maiskorn. Vorkommen in anderen Getreidekörnern.

Nicht alle Teile des Maiskornes sind gleich reich an Glukase. Eine genaue Untersuchung der verschiedenen Teile ergiebt, daß der ruhende Keim zwar nicht vollständig frei ist von Glukase, jedoch davon nur Spuren enthält. Während der Keimung vermehrt sich der Glukasegehalt nicht oder nur unbeträchtlich, der Keimling erzeugt diesen Körper in kaum nachweisbarer Quantität, während die Granulasebildung eben im Verlaufe der Keimung erst recht stark wird.

Im Endosperm ist die Glukase nicht gleichmäßig verteilt, sondern, wie wir früher gesehen, angehäuft in den äußeren Schichten, welche eine hornartige Konsistenz besitzen, und fehlt beinahe gänzlich im mehlartigen Inneren desselben.

Granulase und Maltase fehlen im Maisendosperm vor der Keimung vollständig, Maltase entseht darin niemals, Granulase dagegen beim Keimprozesse als Produkt des Keimlings und wird durch das an das Endosperm grenzende Cylinderepithel des Scutellums erzeugt, die Zellen des Inneren des Keimlings sind diastasefrei. Ehe die Keimung beginnt, läßt sich in diesem Cylinderepithel schon mit Leichtigkeit Granulase nachweisen, während, wie gesagt, der Glukasegehalt desselben minimal ist.

Von anderen Getreidekörnern untersuchte ich Sorgho (Andropogon Sorghum), Hirse (Panicum miliaceum), Weizen, Roggen und Gerste genauer. In Bezug auf die Sorghokörner läßt sich genau dasselbe sagen wie von Mais: Das Endosperm ist sehr reich an Glukase und diastasefrei, während der Keimung erzeugt das Cylinderepithel des Keimlings reichlich Granulase und keine Glukase. Auch hier wird die Keimung eingeleitet durch Glukose, welche aus Stärke entsteht; im ferneren Verlaufe des Wachstums wird dagegen zuerst Maltose gebildet. Ebenso bei Hirse.

1) Daß es sich dabei dennoch um eine Enzymwirkung handelt, folgere ich daraus, daß die Cellulose, ehe sie sich löst, noch vorher in einen sich mit Jod bläuenden Körper umgewandelt wird.

Glukase wurde ebenfalls gefunden im mehligen Endosperm von Sparganium, Carex und Luzula.

Weizen, Roggen und Gerste [1]) verhalten sich auf eine ganz andere, jedoch unter sich identische Weise: Das Endosperm dieser Körner enthält vor der Keimung nur Maltase und ist glukasefrei. Während der Keimung beginnt eine sehr kräftige Bildung von Granulase (und wahrscheinlich auch Maltase) im Cylinderepithel des Scutellums und diese Körper strömen in das Endospern hinein. Im Verlaufe der Keimung entsteht bei diesen Körnern ebenfalls ein wenig Glukase, und zwar sowohl im Cylinderepithel des Scutellums wie in der Aleuronschicht, welche das Endosperm außen bekleidet, jedoch nur in sehr geringer Quantität. Zu gleicher Zeit mit dieser Glukasebildung aus der Aleuronschicht wird darin, und zwar in viel beträchtlicherer Quantität Granulase produziert. Maltasebildung durch das Aleurongewebe konnte dagegen nicht nachgewiesen werden. Bei der weiteren Entwickelung der Keimpflanze während des Malzprozesses entsteht in den Geweben der Wurzeln und Blätter Rohrzucker, welcher durch zu gleicher Zeit erzeugte Invertase später beim Einmaischen in Glukose und Laevulose übergehen kann, so daß es verfehlt wäre, den nicht unbeträchtlichen Glukosegehalt der Würzen der Brauereien und Preßhefefabriken (in den Würzen der Preßhefefabrik Delft 1—2 Proz., d. h. bis zu 20 Proz. des Gesamtzuckers) auf die Glukase allein zurückzuführen. Da die Getreideglukase kaum oder nicht diffundiert, so braucht man, um die Lokalisation derselben anzuzeigen, nur einen dünnen Querschnitt des Endosperms auf einen empfindlichen Kahmpilzmaltoseboden zu legen; schon nach 24 Stunden bekommt man ein Auxanogramm von der Form des Querschnittes, worin die eigentümlich gefaltete Aleuronschicht sich aufs schönste durch kräftiges Kahmpilzwachstum hervorhebt infolge ihres besonderen Reichstums an Glukase.

c) Verbreitung der Glukase bei anderen Monokotylen und bei Dikotylen und im Körper höherer Tiere. Bei Schimmelpilzen. Zymoglukase aus Hefe.

Durch viele Versuche mit allerlei Samen von Dikotylen und Monokotylen hat sich ergeben, daß die meisten endospermfreien Samen sowie die Samen mit „fleischigem“ und „hornartigem“ Endosperm diastase- und glukasefrei sind [2]). Dagegen enthalten alle Samen mit mehligem Endosperm Glukase oder Maltase im Endosperm und erzeugen Granulase bei der Keimung im Keimlinge. Ich glaube zur Aufstellung folgender allgemeiner Regeln berechtigt zu sein:

1) Granulase, Maltase und Glukase werden in erheblichen Mengen nur in den Samen mit mehligem Endosperm gefunden, in den Samen mit hornartigem und mit fleischigem Endosperm, sowie in den endospermfreien Samen, fehlen diese Enzyme entweder ganz oder es entsteht, wie bei den Papilionaceen, ein wenig Granulase im Innern der Samenlappen während der Keimung. Die Monokotylen, bei welchen Glukase oder, viel seltener, Maltase thatsächlich schon gefunden oder

1) Aegilops ovata und Lolium perenne gehören ebenfalls hierher.

2) Die sehr schwachen diastatischen Wirkungen, welche beinahe alle Pflanzensäfte zeigen, kommen hier nicht in Betracht.

zu erwarten sind, gehören deshalb zu einer der folgenden Familien mit mehligem Endosperm: Cyperaceen, Gramineen, Sparganiaceen, Eriocaulaceen, Flagellariaceen, Restionaceen, Centrolepidaceen, Juncaceen, Musaceen, Marantaceen, Zingiberaceen.

2) Granulase wird erst beim Keimungsprozesse gebildet, gewöhnlich durch das Epithel des Keimlings, selten auch durch andere Teile, wie durch das Aleurongewebe der Getreidekörner.

3) Eine dritte Regel, welche das Studium der Monokotylensamen mit mehligem Endosperm ans Licht brachte, ist diese:

Maltase und Glukase sind die einzigen Enzyme, welche im mehligen Endosperm vorkommen, und zwar stellvertretend, so daß das mehlige Endosperm des Getreides entweder Glukase und keine Maltase enthält, wie bei Mais, Sorgho und Hirse, oder Maltase und keine Glukase (oder wenigstens nur Spuren), wie bei Weizen, Roggen, Gerste und vielen anderen Gräsern.

Von den Dikotyledonen kommen die folgenden Familien mit mehligem Endosperm als sicher oder wahrscheinlich glukasehaltig hier in Betracht: Plumbaginaceen, Mesembryanthemaceen, Nymphaeaceen, Frankeniaceen, Caryophyllaceen (p. p.), Paronychiaceen, Portulaccaceen, Tetragoniaceen, Chenopodiaceen, Amarantaceen, Nyctaginaceen, Phytolaccaceen und Polygonaceen.

Von allen diesen habe ich die Samen von Mirabilis Jalapa (Nyctaginaceen), Polygonum Fagopyrum (Polygonaceen), Beta vulgaris und Spinacia oleracea (Chenopodiaceen), welche aufs Geradewohl aus Samen mit mehligem Endosperm gewählt wurden, durch das Diffusionsverfahren und auxanographisch näher untersucht. Es hat sich ergeben, daß das mehlige Keimweiß ausnahmslos nur Glukase führt, und zwar eine leicht diffundierbare Modifikation. Dagegen erzeugen die Keimlinge massenhaft Granulase, welche beim Keimungsprozesse das mehlige Endosperm allseitig durchdringt. Besonders die so hoch interessanten keimenden Samen von Mirabilis sind für diese Untersuchung geignet. An dieser Stelle will ich nur hervorheben, daß die Glukase sicher nicht in den Samenlappen gebildet wird, sondern sozusagen als Reservematerial zwischen dem feinkörnigen Amylum im Endosperm abgelagert vorkommt. Die Samenlappen umschließen bei Mirabilis das Endosperm, welches daraus leicht in einem einzigen Klumpen entfernt werden kann. Bei der Keimung scheiden beide Samenlappen Granulase ab, und zwar sehr viel und durchaus keine Glukase. Diejenige Seite (rückwärts) des einen Samenlappens, welche das Endosperm berührt, ist in dieser Beziehung am meisten aktiv. Schwächer diffundiert die Granulase aus der Bauchseite jenes Samenlappens. Noch schwächer ist die Granulasebildung im anderen Samenlappen, welcher das Endosperm nicht berührt, sondern sich der Bauchseite des ersten Cotyledo anschmiegt. Maltase fehlt bei den von mir untersuchten Dikotylensamen vollständig.

Von tierischen Geweben untersuchte ich Blut, Pankreas und Leber von Schweinen und Rindern und fand überall etwas Glukase, jedoch nur im Lebergewebe in etwas ansehnlicher Quantität, wenn

auch sehr viel weniger, wie in den genannten Pflanzensamen. Auch menschlicher Speichel enthält Spuren von Glukase.

Schließlich erlaube ich mir noch, zu bemerken, daß ich in den Hefezellen einen Körper gefunden habe, welchen ich Zymoglukase nennen will und welcher unter gewissen Bedingungen Maltose in eine Substanz umwandelt, welcher durch Mycoderma leicht assimiliert wird. Meine Zymoglukase stirbt schon vollständig bei 55° C, während Glukase (und auch Invertase) dieser Temperatur nicht erliegen, sondern bis 68° à 70° C erhitzt werden müssen, ehe der Tod erfolgt. Inzwischen hat auch E. Fischer Mitteilungen über die Existenz eines Maltose zerlegenden Enzyms in Hefezellen gemacht, und werden voraussichtlich noch weiter Mitteilungen von verschiedenen Seiten nachfolgen. Eben wie bei der Laktase (das Enzym des Milchzuckers) sind die Bildungs- und Abscheidungsverhältnisse der Zymoglukase noch verwickelter wie bei der Diastase und Glukase.

Auf die sehr allgemeine Verbreitung der Glukase (oder wahrscheinlicher der Zymoglukase) bei den verschiedenartigsten Schimmelpilzen, worunter einzelne unserer gemeinsten Penicillium-, Mucor- und Aspergillus-arten, hoffe ich bei einer anderen Gelegenheit zurückzukommen.

28. Januar 1895.

Bakteriologische Untersuchungen über den Reifungsprozess des Emmenthalerkäses.

Von

Dr. Ed. von Freudenreich,

Vorsteher des bakt. Laboratoriums der Molkereischule Rütti (Bern).

(Schluß.)

Versuche mit Bacillus 3.

(Dieser Bacillus ist identisch mit Tyrothrix tenuis Duclaux.)

Käse No. 1. 5. Juni 1893. Zusatz von 100 ccm Kultur von Bacillus 3 in Milch.

Am 5. Juli und 11. August werden beide untersucht. Bei keinem ist Reifung vorhanden. Bacillus 3 fand sich auf den Platten des geimpften Käses nicht mehr vor.

Käse No. 2. 19. Juni 1893. Zusatz von 100 ccm Bouillonkultur und 100 ccm Milchkultur von Bacillus 3.

Am 18. August keine Reifung, weder bei dem Kontroll- noch bei dem geimpften Käse.

Käse No. 3. 22. Juni 1893. Gleicher Versuch wie am 19. Juni.

Am 17. August gute Reifung, sowohl bei dem geimpften, wie bei dem Kontrollkäse. Ersterer enthielt neben Milchsäurefermenten auch noch den eingeimpften Bacillus.

Käse No. 4. 24. August 1893. Zusatz von 100 ccm Bouillonkultur von Bacillus 3 (eintägige Kultur, sporenfrei).

Am 11. Oktober keine Reifung. Keine Kolonieen von Bacillus 3. Auch der Kontrollkäse reifte nicht.

Käse No. 5. 25. August 1893. Zusatz von 100 ccm Bouillonkultur mit Sporen von Bacillus 3 und dazu 100 ccm Kultur von Bacillus α.

Am 13. ist der Kontrollkäse noch hart und nicht gereift. Der geimpfte ist weich und ziemlich gereift. Auf den Agarplatten drei Kolonieen eines verflüssigenden Bacillus, der aber nicht identisch ist mit Bacillus 3, von welchem sich gar keine Kolonieen vorfinden.

Käse No. 6. 12. Juli 1893. In diesem Versuche wurde die pasteurisierte Milch bereits am Abende des 11. Juli mit Bacillus 3 geimpft, um eine reichliche Entwickelung desselben zu veranlassen. Am Morgen des 12. Juli war die Milch nicht sauer, aber infolge der Labwirkung von Bacillus 6 leicht geronnen. Nach dem Verkäsen war der geimpfte Käse weicher als der Kontrollkäse. Die zur Herstellung des Kontrollkäses bestimmte Milch war nach der Pasteurisation während der Nacht stark abgekühlt worden. Am 22. August ist bei dem Kontrollkäse gute Reifung bemerkbar. Der geimpfte ist weicher, der Geschmack ist aber schlecht; auch ist er klebrig geworden.

In den 5 Versuchen, in denen Bacillus 3 allein gebraucht wurde, haben wir also einmal gute Reifung, sowohl bei dem geimpften als bei dem Kontrollkäse (22. Juni). 3 mal keine Reifung, weder bei geimpften, noch bei Kontrollkäsen (5. Juni — 19. Juni — 24. August). 1 mal fehlende Reifung bei dem geimpften, gute bei dem Kontrollkäse (12. Juli). Zu bemerken ist, daß in letzterem Falle die Milchsäurebacillen sich jedenfalls trotz der Abkühlung während der Nacht in der Milch vermehren konnten. Es liegt daher der Gedanke nahe, daß sie die Reifung veranlaßten. Der gleiche Versuch zeigt, daß Bacillus 3 wohl auf das Kaseïn einwirkt (Erweichung), wenn es zur Entwickelung kommt, daß aber dadurch der Geschmack der Käses nur verschlechtert wird.

Bacillus 3 ist, wie gesagt, identisch mit Tyrothrix tenuis, einem Hauptvertreter der Duclaux'schen Käsebacillen, aber die vorstehenden Versuche machen es kaum wahrscheinlich, daß er eine große Rolle bei der Reifung zu spielen habe.

In dem Versuche, in welchem neben Bacillus 3 auch Bacillus α, also Milchsäurefermente, geimpft wurden (25. August), erzielte man eine ziemliche Reifung, die bei dem Kontrollkäse fehlte.

Versuch mit Bacillus 5.

Käse vom 15. Juni 1893. Zusatz von 100 ccm Milchkultur und 100 ccm Bouillonkultur von Bacillus 5.

Am 18. August absolut keine Reifung, weder bei dem Kontrollnoch bei dem geimpften Käse.

Versuch mit einem Bacterium termo ähnlichen Bacillus.

Käse vom 27. Januar 1893. Zusatz von 100 ccm Kultur. Bis 16. Februar im Käsekeller der Rütti aufbewahrt, dann im Laboratorium.

Analyse vom 16. Februar:

a) Kontrollkäse. Etwas Reifung. Sehr viele Milchsäurefermente.

b) Geimpfter Käse. Gleiche Reifung wie bei dem Kontrollkäse, aber schlechter Geschmack. Nur Milchsäurefermente.

Analyse vom 4. April:

a) Kontrollkäse. Ziemlich gereift, nicht schlecht.

b) Geimpfter Käse. Reifung wie bei dem Kontrollkäse, eher etwas vorgerückter, aber weniger guter Geschmack. Viele Milchsäurefermente.

Versuch mit Tyrothrix scaber Duclaux.

Käse vom 7. Juni 1893. Zusatz von 100 ccm Milchkultur und 100 ccm Bouillonkultur von T. scaber.

Am 8. August ist der Kontrollkäse nicht gereift; er enthält Milchsäurefermente. Der geimpfte Käse ist etwas weicher, jedoch auch nicht gereift. Auf den Agarplatten viele Kolonieen verflüssigender Bacillen, aber keine von T. scaber, eine T. scaber-Kolonie auf einer Gelatineplatte.

Versuch mit Tyrothrix geniculatus Duclaux.

Käse vom 14. Juni 1893. Zusatz von je 100 ccm Milch- und Bouillonkultur von T. geniculatus.

Am 12. August kein Unterschied zwischen Kontroll- und geimpftem Käse; letzterer ist vielleicht etwas weicher. Auf den Platten nur eine T. geniculatus-ähnliche Kolonie.

Versuch mit Tyrothrix filiformis Duclaux.

Käse vom 16. Juni 1893. Zusatz von je 100 ccm Milch- und Bouillonkultur von T. filiformis.

Am 18. August ist weder bei dem geimpften, noch bei dem Kontrollkäse Reifung vorhanden.

Versuch mit Tyrothrix distortus Duclaux.

Käse vom 9. Juni 1893. Zusatz von 100 ccm Kultur von T. distortus.

Am 8. August keine Reifung, weder bei dem geimpften, noch bei dem Kontrollkäse; keine Kolonieen von T. distortus auffindbar.

Versuche mit Tyrothrix turgidus Duclaux.

Käse No. 1. 10. Juni 1893. Zusatz von je 100 ccm Milch- und Bouillonkultur von T. turgidus.

Am 8. August ist der Kontrollkäse nicht gereift, während eine gewisse Reifung bei dem geimpften Käse vorzuliegen scheint. Käsegeruch vorhanden. Die Platten geben einige T. turgidus-Kolonieen, sowie sehr viele Milchsäurefermente. Direkte Impfung der Käseemulsion in 2 Bouillonröhrchen giebt T. turgidus nicht wieder. Der eingeimpfte Bacillus scheint demnach recht spärlich vorhanden zu sein.

Käse No. 2. 11. Juli 1893. Impfung mit 70 ccm Bouillonkultur von T. turgidus abends vorher. Die Milch des Kontrollkäses wird über Nacht abgekühlt.

Bereits am 12. Juli giebt der geimpfte Käse keine Kolonieen von T. turgidus auf den Gelatineplatten mehr. Am 12. August sind

beide Käse in schlechtem Zustande. Der Kontrollkäse ist gebläht, schmeckt aber etwas gereift. Der geimpfte Käse ist weich geworden wie überreifer Roquefort oder Gorgonzola. Reifung ähnlich derjenigen der Weichkäse.

Käse No. 3. 16. August 1893. Zusatz von 180 ccm Bouillonkultur von T. turgidus.

Am 11. Oktober ist der Kontrollkäse etwas gereift. Er enthält nur ovale Kokken, der Geschmack ist aber nicht gut. Der geimpfte Käse ist ziemlich gereift, aber bitter. T. turgidus-Kolonieen lassen sich keine mehr auffinden.

Käse No 4. 23. August 1893. Zusatz von 250 ccm Bouillonkultur von T. turgidus nebst 100 ccm Bouillonkultur von Bacillus α.

Am 26. Oktober ziemliche Reifung bei dem Kontrollkäse vorhanden. Er enthält nur Milchsäurefermente. Der geimpfte Käse ist zemlich gut gereift, jedenfalls weicher und saftiger als der Kontrollkäse. Außer Milchsäurefermenten geben die Platten noch reichlich Kolonieen von T. turgidus. Jedoch darf nicht vergessen werden, daß der Zusatz von 250 ccm Bouillonkultur eine sehr starke Infektion darstellt; es ist daher leicht erklärlich, daß noch nach 2 Monaten der eingeimpfte Bacillus auf den Platten erscheinen konnte.

Käse No. 5. 26. August 1893. Zusatz von 100 ccm Bouillonkultur von T. turgidus und 100 ccm Bouillonkultur von Bacillus α.

Am 26. Oktober ziemlich gute Reifung bei Kontroll- und geimpftem Käse; letzterer ist vielleicht etwas reifer. Auf den Platten nur 1 Kolonie von T. turgidus, daneben noch andere verflüssigende Bacillen.

Unter 3 Versuchen mit T. turgidus allein war also einmal eine gewisse Reifung bei dem geimpften Käse vorhanden, die bei dem Kontrollkäse fehlte (10. Juni). Ein andermal war der geimpfte Käse vielleicht etwas gereifter als der Kontrollkäse, aber bitter (16. August). Das dritte Mal (11. Juli) war der geimpfte Käse mehr weichkäseartig geworden, während der Kontrollkäse etwas gereift schmeckte.

In den 2 Versuchen, in welchen neben T. turgidus auch Bacillus α eingeimpft wurde, scheint die Reifung etwas beschleunigt worden zu sein.

Jedenfalls sind aber auch hier die Resultate keineswegs ein Beweis einer günstigen Wirkung von T. turgidus auf die Käsereifung; 1 mal war der Käse bitter und gerade in den Fällen, in welchen ziemlich gute Reifung sich einstellte, waren auch Milchsäurefermente zugesetzt worden.

Den vorerwähnten 34 Versuchen, welche zum Zwecke hatten, den Einfluß des Zusatzes verschiedener verflüssigenden Bacillen auf die Reifung des Käses zu studieren, kann man freilich keine absolute Bedeutung zusprechen, weil ich genötigt war, von einer genauen chemischen Analyse in jedem einzelnen Falle abzusehen und mich darauf beschränken mußte, sie bloß bakteriologisch zu untersuchen und den Reifungszustand nur annähernd nach dem Geschmacke festzustellen. Immerhin glaube ich, daß ihnen eine wenigstens relative Bedeutung nicht abgesprochen werden kann, und daß sie in mancher Beziehung lehrreich sind.

Erstens sieht man, daß, wenn auch in gewissen Fällen die Einimpfung verflüssigender Bacillen von Reifung begleitet gewesen zu sein scheint, andererseits in noch zahlreicheren Fällen die Reifung ausblieb; ferner trat in vielen Fällen auch bei dem Kontrollkäse Reifung ein, so daß es sehr unwahrscheinlich wird, daß die verflüssigenden Bacillen je die Ursache der Reifung waren. Unterstützt wird diese Ansicht durch den Umstand, daß nie eine Vermehrung dieser Bakterienarten sich konstatieren ließ; freilich konnten mittels der Agarplatten keine genauen Zählungen vorgenommen werden, aber wenn einige Zeit nach der Impfung mit bedeutenden Bakterienmengen keine oder nur spärliche Kolonieen mehr auftreten, so deutet dieses kaum auf eine Vermehrung hin. Die damals gemachten Beobachtungen stimmen vielmehr mit den Resultaten der Experimente über die Vermehrung von Bacillus 6 im Käse, in welchen durch sehr genaue Zählungsmethoden (Erwärmen der Käseemulsion) seine rasche Abnahme im Käse festgestellt wurde. Befremdend mag es erscheinen, daß auch Kontrollkäse aus pasteurisierter Milch reiften; indessen bewirkt diese bekanntlich nie eine absolute Sterilisierung, und stets waren in diesem Falle Milchsäurefermente gegenwärtig, die mir im allgemeinen um so zahlreicher zu sein schienen, als die Reifung vollkommener war. Die Rolle der Milchsäurefermente bei der Reifung wird übrigens noch dadurch bewiesen, daß gerade diejenigen geimpften Käse am besten zu reifen schienen, welche auch Milchsäurebakterien zugesetzt erhalten hatten.

Wollte man trotz des Umstandes, daß eine Vermehrung der Tyrothrix-Arten im Käse sich nicht nachweisen läßt, dennoch daran festhalten, daß sie an der Reifung einen hervorragenden Anteil nehmen, so müßte man annehmen, daß dieses durch die in den ersten Tagen vor ihrem Verschwinden gebildeten Diastasen bewirkt werde. Dem widerspricht aber die Thatsache, daß sie, wie wir gesehen haben, in der Milch, also auch in der frischen Käsemasse, gewöhnlich gar nicht zahlreich sind; und es ist daher kaum denkbar, daß sie, in so spärlicher Anzahl vorhanden, imstande seien, genug Diastasen zu produzieren, um die ganze Käsemasse zu verändern. Eher könnte man dieses von den im Anfang stets sehr zahlreichen verflüssigenden Kokken annehmen.

Wenn man somit, wie mir scheint, berechtigt ist, den Tyrothrix-Arten eine größere Bedeutung bei dem Reifungsprozesse des Käses abzusprechen, so frägt es sich nun, welche Bakterien denn hier ihre Thätigkeit entfalten; es liegen nunmehr nur noch zwei Möglichkeiten vor: entweder sind es die Milchsäurefermente, vielleicht unter Mitwirkung der im Anfangsstadium stets vorhandenen, öfters erwähnten verflüssigenden Mikrokokken, oder es existiert eine noch nicht kultivierte anaërobe Bakterienspecies, die die Reifung verursacht. Aërob könnte sie nicht sein, weil sie sonst auf den Milchagarplatten sich wohl hätte kultivieren lassen; zu den gewöhnlichen Anaëroben könnte sie auch nicht gehören, da ja die unzähligen anaëroben Platten, die ich mit Gelatine angefertigt habe, nie anderes enthielten als Milchsäurefermente. Es müßte also eine anaërobe Art sein, die nur in Milch resp. Kaseïn leben könnte. Dieses scheint mir nicht

sehr wahrscheinlich, denn auch auf Milchagaroberflächeplatten, überdeckt mit einer flüssigen Paraffinschicht, die ich in jüngster Zeit angewendet habe, fand ich nur die gewöhnlichen Milchsäurefermente; indessen wird man gut thun, bei den späteren Untersuchungen auch diese Eventualität im Auge zu behalten. Wahrscheinlicher scheint mir indessen zu sein, daß die Milchsäurefermente es sind, welchen die Hauptrolle bei der Reifung zukommt.

In meiner bereits erwähnten früheren Arbeit (vergl. dieses Jahrbuch. 1891. p. 16) war ich freilich auf Grund einiger Versuche, die ich mit Bacillus α, dem ovalen Coccus und einigen anderen Milchsäurefermenten ausgeführt hatte, zu dem Schlusse gekommen, daß keiner dieser Mikroorganismen imstande sei, allein diese Reifung hervorzubringen, wenigstens nicht unter den Bedingungen, die sich in kleinen Versuchskäsen vorfinden. Indessen ist zu bemerken, daß ich damals vielleicht zu kleine Mengen dieser Bakterien zusetzte, gewöhnlich nur 10—15 ccm. Auch war in manchen Fällen doch eine bestimmte Wirkung zu verspüren, so z. B. die Käse vom 15. Juli und 13. November 1890 (Bacillus α), dann bei manchen der mit Micrococcus a geimpften Käse. Auch sieht man aus dem Versuche vom 31. Dezember 1889, daß bei Anwendung gewöhnlicher, nicht pasteurisierter Milch der Zusatz von Kulturen des Bacillus α eine deutliche Beschleunigung der Reifung zur Folge hatte. Zu viel Bedeutung wollte ich jedoch damals diesen Versuchen nicht beilegen, weil die Resultate noch nicht so gleichförmig waren, wie ich es gewünscht hätte. Ich habe daher diese Experimente teilweise wiederholt und besonders auch in letzter Zeit den Versuch gemacht, mehrere Arten Milchsäurefermente zusammen der pasteurisierten Milch zuzusetzen, insbesondere auch die Bacillen δ und ε. Die Resultate scheinen mir in der That ziemlich ermutigend zu sein.

Ich lasse hier einige dieser Versuche folgen:

Versuch 1. 7. Juli 1893. Zusatz von 100 ccm Kultur von Bacillus α Abends vorher.

Am 22. August ist Reifung bei dem Kontrollkäse wahrnehmbar, er hat aber wenig Geschmack. Der geimpfte Käse ist gereifter und weicher. Vollkommen gereift ist jedoch keiner, was auch das junge Alter derselben erklärlich macht.

Versuch 2. 12. Dezember 1893. Zusatz von 100 ccm Kultur von Bacillus α. Aufbewahrung bei ca. 25°.

Am 9. Februar ist der Kontrollkäse fast gar nicht gereift. Er enthält den gewöhnlichen ovalen Coccus, einen anderen ovalen Coccus, auch ein Milchsäureferment, der aber die Gelatine verflüssigt, und auch einige verflüssigende Bacillenkolonieen. Der geimpfte Käse ist etwas gereifter und weicher; er enthält Bacillus α und auch einige ovale Kokken.

Versuch 3. 30. Dezember 1893. Zusatz von 100 ccm Kultur von Bacillus α und 140 ccm Kultur des verflüssigenden Micrococcus.

Am 2. März keine Reifung bei dem Kontrollkäse, während sie bei dem geimpften ausgesprochen ist.

Versuch 4. 31. Januar 1894. Zusatz von 180 ccm Kultur des verflüssigenden Micrococcus und 120 ccm Kultur von Bacillus α.

Am 27. März gute Reifung bei dem geimpften Käse. Der Kontroll-

käse ist bitter geworden, und man findet in demselben den in diesem Jahrbuche an anderer Stelle beschriebenen Micrococcus des bitteren Käses; jedenfalls eine zufällige Infektion, davon herrührend, daß der erwähnte Mikroorganismus infolge der mit ihm ausgeführten Versuche die Luft des Laboratoriums infiziert hatte.

Versuch 5. 19. April 1894. Zusatz von je 100 ccm Kultur von Bacillus α, δ, ε und des ovalen Coccus.

Am 31. Juli ist der Kontrollkäse sehr wenig gereift, bei dem geimpften ist die Reifung ziemlich gut und ziemlich vorgeschritten.

Versuch 6. 21. April 1894. Ganz gleicher Versuch wie am 19. April.

Am 31. Juli ebenfalls ziemlich vorgeschrittene Reifung bei dem geimpften Käse, während bei dem Kontrollkäse fast keine Reifung wahrzunehmen ist.

Versuch 7. Wiederholung des vorigen Versuches. 24. April 1894.

Am 31. Juli ist der Kontrollkäse sehr schwach gereift, aber bitter. Der geimpfte Käse ist ziemlich gut gereift.

Versuch 8. 8. Mai 1894. Zusatz von je 100 ccm Kultur von Bacillus α, δ, ε, des ovalen Coccus und des verflüssigenden Micrococcus.

Am 7. August ziemlich gute Reifung bei letzterem Käse vorhanden, während der Kontrollkäse sehr wenig gereift ist.

Versuch 9. 9. Mai 1894. Wiederholung des vorigen Versuches.

Am 7. August ziemlich gute Reifung und saftiger Geschmack bei dem geimpften Käse vorhanden, während der Kontrollkäse, wenn auch merkbar, doch sehr wenig gereift ist.

Versuch 10. 3. Februar 1894. Zusatz von 200 ccm Kultur von Bacillus ε.

Am 29. März fehlende Reifung bei dem Kontrollkäse, gute Reifung bei dem geimpften. Letzterer enthält Bacillus ε und auch Bacillus α. Der Kontrollkäse giebt wenig Kolonieen des Bacillus α und des ovalen Coccus.

Versuch 11. 7. Februar 1894. Zusatz einer wässerigen Emulsion bereitet mit 30 g eines gut gereiften, acht Monate alten Emmenthalerkäses. Aus der Emulsion ließen sich nur Milchsäurefermente züchten.

Am 3. April ist die Reifung bei dem Kontrollkäse sehr wenig ausgesprochen. Er enthält den ovalen Coccus. Der geimpfte Käse dagegen ist sehr gut gereift. Man züchtet aus demselben den ovalen Coccus und Bacillus α, δ und ε.

Letzterer Versuch scheint mir sehr wichtig zu sein und ein Mittel an die Hand zu geben, um eine gute Käsereifung hervorzubringen. Vielleicht wird man mittels dieser Methode imstande sein, spezifische Käsevarietäten durch Zusatz von Emulsionen gut gereifter Käse der gewünschten Art nach Belieben hervorzubringen.

Die vorstehenden Versuche scheinen dafür zu sprechen, daß in der That die Milchsäurefermente der Haupt-, wenn nicht der alleinige Faktor bei der Käsereifung sind, eine Ansicht, die übrigens auch neuere

Forscher zu teilen geneigt sind. So sagt z. B. E. J. Lloyd[1]), welcher den Reifungsprozeß des Cheddarkäses eingehend studiert hat, daß gegenüber den Milchsäurefermenten die Zahl der übrigen Bakterienarten im Käse eine verschwindend kleine sei und daß für die Reifung dieser Käsevarietät einzig ein von ihm beschriebener Milchsäurebacillus verantwortlich gemacht werden könne. Alle anderen Bakterien seien unnötig oder schädlich.

Weiteren Studien und Versuchen bleibt es nun vorbehalten, festzustellen, auf welchem Wege die Milchsäurefermente eine solche Wirkung ausüben können. Impft man Milchsäurefermente z. B. in Milch ein, so hört bald infolge der Säurebildung jedes weitere Wachstum auf, und die geronnene Milch erleidet keine weiteren Veränderungen. Es ist aber nicht ausgeschlossen, daß unter anderen Umständen, besonders auch bei Abschluß der Luft, die von den Milchsäurefermenten bewirkten chemischen Aenderungen zu tiefer gehenden Zersetzungen des Kaseïns, wie solche bei der Reifung stattfinden, sich gestalten können. Einige orientierende Versuche, die ich in dieser Richtung anstellte, indem ich z. B. zu große Säurebildung verhinderte, scheinen mir dafür zu sprechen, müssen aber noch weiter fortgesetzt werden.

Vorläufig möchte ich mich darauf beschränken, folgende Schlußfolgerungen aus allen erwähnten Beobachtungen und Versuchen zu ziehen:

1) Die vielfach als Hauptfaktor bei der Reifung des Käses angesehenen, die Gelatine verflüssigenden Bacillenarten (Tyrothrix-, Kartoffel- oder Heubacillen) sind im Käse und gewöhnlich auch in der Milch wenig zahlreich.
2) Weit entfernt, sich im Käse zu vermehren, scheinen sie, selbst in großen Mengen demselben zugesetzt, rasch abzusterben, außer wenn sie in Sporenform zugesetzt werden, in welchem Falle sie länger am Leben bleiben, jedoch ohne sich zu vermehren.
3) Der verkästen Milch zugesetzt, scheinen sie eine Reifung weder zu bewirken, noch dieselbe zu begünstigen.
4) Wahrscheinlich spielen bei der Reifung verschiedene Milchsäurefermente die Haupt-, wenn nicht sogar die alleinige Rolle, wenigstens bei den Emmenthalerkäsen. In den Weichkäsen dagegen nehmen Oïdium lactis und auch Hefen an der Reifung Anteil.

---

1) E. J. Lloyd, Observations on Cheddar Cheese-Making. Reports for 1891, 1892 and 1893. (Bath.)

Ueber Nitrat zerstörende Bakterien und den durch dieselben bedingten Stickstoffverlust.

[Mitteilung aus der landwirtschaftlichen Versuchsstation in Bonn.]

Von

R. Burri und **A. Stutzer.**

(Fortsetzung.)

c) Gärungsversuche mit Reinkulturen.

Im vorigen Abschnitte wurde angedeutet, inwiefern die Thatsache, daß auch in längere Zeit erhitzten Kulturen Schaumbildung und Salpeterzerstörung eintritt, für die Wahl des Ausgangsmaterials bei unseren Isolierungsversuchen maßgebend sein konnte. Ueber die letzteren können wir um so kürzer hinweggehen, da die Resultate derselben, wenigstens was das Arbeiten mit einzelnen Reinkulturen betrifft, durchweg negative waren. Wir beschränken uns also darauf, kurz die verschiedenen Wege anzugeben, auf welchen wir zum Ziele zu gelangen hofften.

Der direkteste Weg, die Isolierung der gesuchten Gärungserreger aus Pferdefaeces, war wenig aussichtsvoll, da verflüssigende Bakterienarten die Auffindung langsam wachsender unmöglich machten. Eine Reihe von Arten, die wir isolierten und auf Nitratbouillon verimpften, war nicht imstande, Gärung hervorzurufen.

Bessere Aussicht auf Erfolg boten in heftiger Gärung befindliche Kulturen des mehrerwähnten Gemisches. Mit Material aus einer solchen wurden eine Reihe von Salpeter-Gelatineplatten sowohl auf aërobem als anaërobem Wege angelegt, um die in solchen Kolben befindliche Bakterienmischung in die einzelnen Elemente zu trennen. Es war auch mit einiger Sicherheit anzunehmen, daß die Gärungserreger in Bezug auf Zahl sich im Vordergrunde befinden oder infolge ihrer starken chemischen Aktionsfähigkeit die meisten anderen Arten unterdrückt haben würden. Die gewonnenen Plattenkulturen machten übrigens bei weitem nicht den Eindruck von annähernden Reinkulturen, vielmehr ließ sich mit Leichtigkeit auf denjenigen von geeigneter Verdünnung das Vorhandensein von mehreren Arten erkennen. Von den aëroben Platten wurden 3 verschiedene, stark vertretene und von den anaëroben Platten 4 der am häufigsten vorkommenden Kolonieen auf Nitratbouillon verimpft, ohne daß in einem der betreffenden Kulturgläschen Gärung eingetreten wäre. Schaumbildung blieb aus und nach 14 Tagen gaben sämtliche die Diphenylaminreaktion in maximaler Stärke. Unter diesen 7 geprüften Arten interessierte uns eine ganz besonders, weil sie auf den verwendeten Salpeter-Gelatineplatten deutliche Gasproduktion gezeigt hatte. Trotz des negativen Ausfalls der Prüfung auf Gärfähigkeit wurde die Art näher untersucht und mit einer gut isolierten Kolonie aërober und an ber Plattenkulturen mit gewöhnlicher und Salpetergelatine angelegt. In diesen reinen Kulturen boten die fraglichen Kolonieen

ganz dasselbe Bild wie auf den Originalplatten, wo sie nur spärlich vertreten waren. Die Gasbildung ist nur an ein bestimmtes Wachstumsstadium gebunden. Ganz junge Kolonieen haben das Aussehen von gewöhnlichen Tiefenkolonieen; sodann beginnt die Gasentwickelung und es entsteht in der Gelatine eine kleine Hohlkugel von ca. 1 mm Durchmesser, deren Wandung mit der Kolonie ausgekleidet ist. Dieses Bild wird indes bald durch umfassende Verflüssigung der Gelatine zerstört. Die Anaërobenplatten mit und ohne Salpeter zeigten die ganz gleichen Erscheinungen; nur waren diese Kulturen hinter den aëroben in der Entwickelung um etwa 2 Tage zurück. Die Deckel der Gefässe für anaërobe Kultur wurden während 9 Tagen nicht geöffnet. Nach dieser Zeit waren sämtliche Platten vollständig verflüssigt und die Flüssigkeit gab mit Diphenylamin und H_2SO_4 intensive Blaufärbung. Diese Art war demnach entschieden nicht für die beobachtete Salpeterzerstörung verantwortlich zu machen.

Ueber die Isolierungsversuche an Hand des gekochten Gemisches, deren geringen Wert wir schon früher betont haben, gehen wir hier gänzlich hinweg. Es bleibt nur noch anzuführen, daß es uns nie gelungen ist, durch Uebertragung von Material aus $\frac{1}{4}$ Std oder länger gekochten Kulturen auf Nitratbouillon in dieser letzteren wieder Gasentwickelung zu erzeugen.

Der vierte einzuschlagende Weg war eine Trennung der Gärungserreger von den gegen Salpeter indifferenten Arten durch successive Uebertragung von Spuren gärenden Materials auf sterile salpeterhaltige Nährlösung. Als solche eignete sich vorzüglich die 0,32-proz. Nitratbouillon. Ueberträgt man einen Tropfen aus dem gärenden Salpeter-Faecesgemisch oder besser aus einer vergorenen Kultur in Nitratbouillon, so stellt sich bei 30° innerhalb 12—24 Std. außerordentlich intensive Trübung ein und nach 20—30 Std. beginnen vom Grunde des Gläschens Gasblasen aufzusteigen, die nach und nach an der Oberfläche der Flüssigkeit einen rein weißen, feinen Schaum erzeugen, der im Reagenzglase eine bis 2 cm hohe Schicht bilden kann. In einer solchen ersten Tochterkultur gelingt es gewöhnlich, eine ganze Reihe von Bakterienarten nachzuweisen, aber schon nach wenigen Uebertragungen nimmt die Zahl derselben rasch ab. Nur ein großes, hautbildendes Stäbchen, das nicht gärungserregend wirkt, hält sich oft lange, oft bleibt es auch schon in der 4. Tochterkultur aus. Eine solche gereinigte Kultur bildete den Ausgangspunkt für die letzten Isolierungsversuche.

Um allfällig verschiedene Arten möglichst leicht erkennen und trennen zu können, wurden die Platten nicht nach R. Koch's System durch Vermischen der Keime mit dem flüssigen Nährboden und nachträgliches Erstarrenlassen desselben hergestellt, sondern nach der von einem von uns (Burri)[1]) beschriebenen Methode zur Gewinnung ausschließlicher Oberflächenkolonien. Verwendet wurde gewöhnliche 0,05-proz. Sodagelatine, und die Kulturschälchen wurden zum Teil unter Luftzutritt, zum Teil unter O-Abschluß gehalten. Das Resultat war ein überraschendes. Nach 30 Stunden machten sämtliche Platten

1) Arch. f. Hyg. Jahrg. 1893.

den Eindruck von tadellosen Reinkulturen und es wurden alsobald Ueberimpfungen auf feste Nährböden und auf Nitratbouillon gemacht. Die letztere war nach 24 Stunden sehr trübe, aber Gasentwickelung fand nicht statt, ebenso nicht in den folgenden Tagen. Daß diese Art, welche auf den Platten nicht verflüssigende, rundliche, zum Teil anisodiametrische flache Kolonieen bildete, nicht der alleinige Erreger des Gärungsvorganges sein konnte, stand demnach fest. Aber ebenso fest waren wir überzeugt, daß diese Art irgendwie in einem ursächlichen Zusammenhange mit der Gärung stehen müsse. Die Ueberlegung drängte dazu, das Prinzip der Mischkulturen bei der Fortsetzung unserer Versuche zu verwenden, das wir bisher außer acht gelassen hatten, um so mehr, da sämtliche in der Litteratur verzeichneten Fälle von Salpeterzerstörung durch Mikroorganismen nur auf die Thätigkeit je einer Art zurückgeführt wurden.

d) Gärungsversuche mit gemischten Reinkulturen.

Jene Art, welche auf den soeben besprochenen Gelatineplatten in Reinkultur vorhanden zu sein schien, bezeichnen wir mit *a*, zwei andere Arten, die auf Grund der früheren Isolierungsversuche als Gärungserreger in erster Linie in Betracht kommen konnten, als *b* und *c*, und eine vierte Art, welche wir in dem Kulturgläschen, aus welchem die reinen Platten stammten, vermuteten, als *x*. Es war nämlich nicht unwahrscheinlich, daß die Gärung durch *a*, welches bei O-Zutritt sehr schnell wuchs, in Verbindung mit einer obligatanaëroben Art vollzogen wurde, und daß uns die letztere bei dem aëroben Züchtungsverfahren einfach entgangen war. Es wurden daher mit dem gleichen Ausgangsmaterial Oberflächenplatten unter O-Abschluß hergestellt. Inzwischen wurden die 3 in Reinkultur befindlichen Arten *a*, *b* und *c* in verschiedener Weise mit einander kombiniert und je 2 auf Nitratbouillon überimpft. Es trat in keinem der Gläschen Gasbildung ein, und so schienen *b* und *c* auch in Mischkulturen für die Gärung bedeutungslos zu sein.

Um so mehr Interesse bot also das Auftreten einer Art, die wir bis jetzt noch nicht beobachtet hatten und in der wir gleich das gesuchte *x* vermuteten. Bei der Revision jener ursprünglich reinen Platten zeigten sich am 4. Tage nach der Aussaat zwischen den Kolonieen von *a* vereinzelte hautartige, bläulich schimmernde Auflagerungen, von denen man nicht gleich sagen konnte, ob es Auswüchse der ursprünglichen Kolonieen oder selbständige Gebilde waren. Präparate im hängenden Tropfen waren nicht entscheidend. Wenn demnach von einer einwandsfreien Abimpfung nicht die Rede sein konnte, so empfahl es sich doch, das gegenseitige Verhalten der beiden verschiedenen Arten, wenn es solche waren, in Nitratbouillon zu prüfen. Es wurden 3 Gläschen mit je 20 ccm des Nährmediums geimpft, und zwar das erste mit einer Spur Material aus der Mitte einer Kolonie von *a*, ein zweites Gläschen mit einer Spur aus der Mitte einer der erwähnten Auflagerungen und ein drittes Gläschen mit Material aus den beiden für die Impfung benutzten Stellen zusammen. Nach 24 Std. zeigte Gläschen *a* wie Gläschen *x* intensive Trübung ohne Schaumbildung, Gläschen $a + x$ hingegen ebensolche Trübung, verbunden mit der durch aufsteigende Gasblasen veranlaßten

Bildung eines typischen, weißen Schaumes auf der Oberfläche der Flüssigkeit.

Nach weiteren 30 Stunden war in dieser Kultur durch chemische Reagentien weder Nitrit noch Nitrat nachzuweisen. Somit waren die in Pferdefaeces vorhandenen Nitrat zerstörenden Organismen isoliert in Form von 2 Bakterienarten, unter deren gleichzeitiger Einwirkung sich der in der Einleitung charakterisierte Reduktionsprozeß vollzieht.

Was die Kolonieen der von uns vorläufig als *x* bezeichneten Art betrifft, so stellten sich diese auch auf den Anaërobenplatten ein, aber erst einige Zeit nachdem dieselben aus dem O-freien Raume entfernt worden waren, während in den ersten Tagen *a* in normaler Entwickelung und gleichsam als Reinkultur erschien. *x* gehörte also entgegen unserer Annahme zu den Arten mit ausgeprägtem Luftbedürfnis. Die nächste Arbeit bestand nun in der Herstellung von absoluten Reinkulturen, um an Hand derselben den ersten positiven Befund kontrollieren zu können. Sodann wurden *b* und *c* nochmals in allen möglichen Kombinationen mit *a* und *x* zusammen verimpft in der Weise, daß in je einem Gläschen mit Nitratbouillon eine, zwei oder drei der genannten Arten anwesend waren. Das Resultat in Bezug auf Gasentwickelung war meistens dasselbe: nur in denjenigen Gläschen, wo *a* und *x* vorhanden waren (und eventuell eine dritte Art), entwickelte sich Schaum. Anfänglich stellten sich bei diesen Versuchen einzelne Unregelmäßigkeiten in den Resultaten ein; diese waren aber sämtlich auf Verunreinigung gewisser vermeintlicher Reinkulturen mit *x* zurückzuführen.

Wie wir weiter unten zeigen werden, hängt diese Thatsache mit einer bisher wohl kaum an einer Bakterienart beobachteten Wachstumseigentümlichkeit von *x* zusammen. Nachdem auf die Beobachtung der oben angedeuteten Unregelmäßigkeiten hin sämtliche in Betracht kommenden Kulturen durch zweimalige Plattenaussaat kontrolliert und gereinigt waren, erwiesen sich auch die Resultate als konstant.

Daß *a* und *x* durch gemeinschaftliche Thätigkeit den Salpeter zerlegen, haben wir auch durch folgende Versuchsanordnung bewiesen:

Einmal säeten wir, von Reinkulturen ausgehend, Spuren von *a* in ein Gefäß mit Nitratbouillon, ebenso Spuren von *x* in ein anderes Gefäß gleichen Inhalts und ließen die beiden mehrere Tage bei 30° C stehen; der Inhalt der Gefässe wurde sehr trübe, entwickelte aber kein Gas. Nach dieser Zeit gossen wir den Inhalt beider Gefässe unter Vermeidung jeder Verunreinigung zusammen. 12—24 Std. später zeigte die Mischkultur lebhafte Gasentwickelung, bez. Schaumbildung.

Ein andermal wurde auf eine sterile Agarplatte eine Strichkultur von *a* angelegt und diese rechtwinklig gekreuzt mit einer Strichkultur von *x*. Nach eingetretenem Wachstume wurde von der Ausgangsstelle des einen Striches, von der Ausgangsstelle des anderen

Striches und von der Kreuzungsstelle der beiden Material auf Nitratbouillon übertragen, nur im letzten Falle trat Schaumbildung ein.

Nach alledem haben wir es bei der Nitratzerlegung bei Anwesenheit von Pferdefaeces mit einem echten symbiotischen Vorgange zu thun, auf dessen Eigenartigkeit wir durch eine kurze Mitteilung in diesem Centralblatte[1]) bereits hingewiesen haben. An gleicher Stelle wurde ein Versuch besprochen, wonach *x* nicht etwa bloß die Rolle eines O entziehenden Mittels spielt, da durch Züchtung von *a* auf anaërobem Wege keine Gärung eingeleitet werden kann.

Eine andere Frage ist die, ob *a* nicht mit einer anderen Art als mit *x* zusammen die Gärung ausführen kann, oder umgekehrt, ob *x* in Gemeinschaft mit einer anderen Art als mit *a* die chemische Arbeit bewältigen würde. Den ersten Teil der Frage müssen wir nach unseren (allerdings nicht zahlreichen) Versuchen mit Nein beantworten. Was den zweiten Teil der Frage betrifft, so konnten wir anstandslos für *a* eine im Laboratorium seit langem gezüchtete Kultur von B. coli commune verwenden, ohne daß sich in Bezug auf Eintritt und Verlauf der Gärung eine Aenderung zeigte. Die Prüfung der Kulturmerkmale von *a* veranlaßte uns sodann später, diese Art geradezu mit B. coli als identisch zu erklären. Daß aber auch der Typhusbacillus im Vereine mit *x* die Salpetergärung durchführte, überraschte uns doch einigermaßen; hatte man doch in dem Mangel des Gärvermögens für Traubenzucker und Milch einen prinzipiellen Unterschied zwischen dem letztgenannten und B. coli erblicken wollen. Und nun bezeugt der Typhusbacillus gerade in gärungsphysiologischer Beziehung aufs deutlichste eine innere Verwandtschaft zu B. coli, die dringend auf die Notwendigkeit hinweist, das Studium der pathogenetischen Verhältnisse beider Arten weiter zu vertiefen und über die Ansichten einer gewissen in dieser Frage vertretenen Meinungsrichtung nicht zu leicht hinwegzugehen.

B. Beschreibung und Kulturmerkmale der aus Pferdefaeces isolierten Gärungserreger.

Sämtliche verwendeten festen und flüssigen Nährböden enthielten 0,05 Proz. wasserfreie Soda; auch die Kartoffeln waren durch Sodabehandlung auf ca. denselben Gehalt an Na_2CO_3 gebracht.

1) Die fakultativ anaërobe Art (bisher als a bezeichnet).

Form, Dimensionen und Lagerung. Aus 2 Tage alten Gelatineplattenkolonieen plumpe Stäbchen, an den Enden abgerundet, Länge $1—1^1/_2$ μ und Dicke ca. $^3/_4$ μ, Plasma homogen. An Stäbchen aus Bouillonkulturen sind die Dimensionen etwas größer, namentlich die Länge, welche hier oft $2^1/_2$ μ erreicht. Fadenartige Verbände nicht beobachtet.

Beweglichkeit bei Stäbchen aus jungen Plattenkolonieen sehr lebhaft, mehr träge in Bouillonkulturen.

---

1) Bd. XVI. p. 814.

Gelatineplattenkulturen. Bei Zimmertemperatur nach 2 Tagen 1—3 mm groß, nicht verflüssigend, stark glänzend, nie kreisrund, sondern immer mehr oder weniger unregelmäßig im Umrisse. Fast jede Kolonie, namentlich wenn dieselben auf der Platte nicht zu spärlich vertreten sind, läßt einen centralen, etwas gewölbten und einen peripherischen flachen Teil unterscheiden, welcher in seiner äußersten Partie hautartig dünn ist und undeutlich konzentrische Zuwachszonen erkennen läßt. Die Oberfläche der Kolonie ist hügelig-rauh, was besonders deutlich zu sehen ist, wenn nur einzelne Kolonieen auf der Platte sind, welche dann innerhalb 4 Tagen einen Durchmesser von 2 cm erreichen können.

Tiefenkolonieen sind zu dieser Zeit ca. 1 mm dicke, kugelrunde oder eiförmige, schmutzig-gelb gefärbte Gebilde mit glattem, sich von der Gelatine scharf abhebendem Rande.

Gelatinestichkulturen. Der ganzen Länge des Stichkanals entlang, und zwar im unteren wie im oberen Teile gleich intensives Wachstum als schmaler Streifen, der sich aus kugeligen Elementen zusammensetzt. An der Oberfläche der Gelatine bei Zimmertemperatur schon nach 2 Tagen ein bis an die Wand des Gläschens sich ausdehnender, firnisglänzender, dünner Belag, dessen Oberfläche deutlich chagriniert ist. Nach 8 Tagen ist das Bild nicht wesentlich verändert; Verflüssigung tritt selbst nach Monaten nicht ein.

Gelatinestrichkulturen. Nach 2 Tagen bei Zimmertemperatur dem Impfstriche entlang ein flacher, mit kleineren und größeren, seitlichen, lappenförmigen Fortsätzen versehener, ca. $^1/_2$ cm breiter Belag, von dem sich die direkt über dem Impfstriche befindliche Partie deutlich als Längsrippe abhebt. Die ganze Fläche ist durch zahllose, unregelmäßig verlaufende Erhabenheiten etwas rauh. Der Belag nimmt nach 4 Tagen so ziemlich die ganze zu Gebote stehende Fläche ein.

Agarstichkulturen. Streifenförmiges Wachstum dem Stichkanale entlang, und zwar in der unteren Hälfte zum mindesten so üppig wie in der oberen. Um die Einstichöffnung herum bildet sich eine hautartig dünne, glänzende, glatte Auflagerung, die sich bald bis an die Wand des Reagenzglases erstreckt. Bei Verwendung von 5-proz. Glycerin-Agar haben sich in der Nährmasse schon nach 20 Stunden zahlreiche Gasblasen gebildet, während sich die ursprüngliche Stichkolonie mit einem trüben, sich vom klaren Agar nicht scharf abhebenden Mantel umgiebt.

Agarstrichkulturen. Wachsen in Form eines schleimigen, stark glänzenden, über die Agarfläche kaum erhabenen Belages mit glatten, teilweise ausgebuchteten Rändern.

Kartoffelkulturen. Bei Bluttemperatur nach 2 Tagen wenig charakteristischer, feuchtglänzender Belag von schmutzig-gelber Farbe. Bei Zimmertemperatur kein wesentlicher Unterschied.

Bouillonkulturen. Bouillon wird gleichmäßig trübe und am Boden sammelt sich ein Häufchen eines schmutzig-weißlichen Bodensatzes, der sich beim Schütteln des Gläschens leicht in staubfeine Partikel zerteilen läßt. Von Deckenbildung an der Oberfläche ist selbst an Wochen alten Kulturen nichts zu bemerken.

Verhalten gegen Farbstoffe. Färbung mit den gewöhnlichen wässerigen Anilinfarblösungen gelingt leicht und gleichmäßig. An einzelnen Individuen sieht man da, wo später die Zweiteilung erfolgt, eine ungefärbte Stelle.

Temperaturverhältnisse. Der Bacillus gedeiht bei Zimmertemperatur fast ebenso schnell wie bei Bluttemperatur.

Sauerstoffbedürfnis. Der Bacillus wächst fast ebensogut bei Abschluß der Luft, als bei Zutritt derselben.

Farbstoffbildung. Die Bildung eines spezifischen Pigmentes ist auf keinem Nährboden beobachtet worden.

Sporenbildung. Nicht nachgewiesen. Einige Wochen alte Bouillonkulturen werden durch einmaliges Aufkochen sterilisiert.

Chemisch-physiologisches Verhalten. Mit der folgenden Art auf Nitratbouillon (3—5 g per l) verimpft, ruft der Bacillus lebhafte Gasentwickelung hervor. Der Salpeter wird dabei vollständig zerstört.

Pathogenität. Verimpfungen des Bacillus durch subkutane Injektion auf weiße Mäuse hatten keinen positiven Erfolg.

Ein Blick auf obige Beschreibung lehrt, daß wir es hier mit demjenigen Typus zu thun haben, dessen Vertreter man als B. coli commune bezeichnet. Der einzige, wesentlich abweichende Punkt besteht in der lebhaften Beweglichkeit, die wir bei Individuen aus jungen Plattenkolonieen bemerken konnten, während die Autoren ziemlich übereinstimmend die geringe Beweglichkeit des B. coli z. B. gegenüber dem Typhusbacillus hervorheben. Ob nun bisher eine ganze Reihe verschiedener Arten irrtümlich unter dem Namen B. coli zusammengefaßt worden sind, oder die von verschiedenen Seiten betonte starke Variabilität des B. coli wirklich besteht, lassen wir dahingestellt. Die von uns beobachtete lebhafte Bewegung allein kann nicht genügen, unsere Art von B. coli zu trennen. Dagegen würde vor allem auch die Isolierung aus frischen Pferdefaeces sprechen, die ja gerade eine regelmäßige Fundstelle für B. coli bilden.

Bacterium coli commune, das bisher schon in mehrfachem Sinne als gärungserregend bekannt war, besitzt demnach auch die Fähigkeit, in Symbiose mit gewissen anderen Bakterien größere Mengen von Nitraten unter Abspaltung freien Stickstoffs vollständig zu zerstören.

2) Die obligat aërobe Art (bisher als x bezeichnet).

Form, Dimensionen und Lagerung. In 1 Tag alten Agaroberflächenkolonieen Stäbchen mit abgerundeten Enden, $^3/_4$ μ Dicke und $1^1/_2$—$2^1/_2$ μ Länge. In Bouillonkulturen beträgt die Länge 2—3 μ. Fadenbildung nicht wahrgenommen.

Beweglichkeit. In jungen Plattenkolonieen die größere Zahl der Einzel- und Doppelstäbchen unbeweglich; wo Bewegung vorhanden, ist sie lebhaft. Auch in 2 Tage alten Bouillonkulturen (bei 30° C) ist ein großer Teil der Stäbchen unbeweglich.

Gelatineplattenkulturen. Der Bacillus verhält sich

ganz eigentümlich in Gelatine, wodurch er sich von den meisten andern aëroben Arten unterscheiden dürfte. Es fehlt ihm nämlich trotz des ausgesprochenen O-Bedürfnisses das Vermögen, an der Oberfläche der Gelatine vom einzelnen Keime ausgehend, eine Kolonie zu bilden, so daß man mit Hilfe einer Methode für Oberflächenkolonieen fast durchweg sterile Platten erhält.

Nachdem wir die Erscheinung schon im Juli beobachtet hatten, wurden den 22. Sept. gleichzeitig Oberflächenplatten von a und x aus frischen Bouillonkulturen angelegt. a wuchs sehr schön und zeigte auf seinen Platten 50—200 Kolonieen. Auf den Platten von x war nach 2 und mehr Tagen nichts zu sehen, trotzdem mit dem gleichen Materiale angelegte Stich- und Strichkulturen von x mit a ungefähr gleichen Schritt gehalten hatten. Den 24. Sept. wurde der Versuch für x wiederholt, und zwar wurde mit der gleichen Aufschwemmung einmal auf erstarrte Gelatine, das andere Mal auf erstarrtes Agar ausgesäet. Die Agarplatten waren nach 20 Stunden dicht mit Kolonieen besetzt, die Gelatineplatten waren noch nach 6 Tagen vollkommen klarer, bezw. die eine zeigte 2 anscheinend fremde Kolonieen, die zweite einen Schimmelpilz und die dritte war absolut rein. Da auf Agar normale Oberflächenkolonieen in kurzer Zeit zustande kamen, so konnte das Ausbleiben von solchen Kolonieen auf den in gleicher Weise besäten Gelatineplatten nur auf die physikalische Beschaffenheit derselben zurückzuführen sein. Nach unserer Ansicht ist die Erscheinung dadurch zu erklären, daß die oberste Gelatineschicht ein zähes, glattes Häutchen bildet, das dem einzelnen darauf gebrachten Bacillus, vielleicht weil ihm die nötigen Fermente mangeln, keine Angriffspunkte bietet, so daß derselbe trotz der ihn reichlich umgebenden Nährstoffe durch Hunger zu Grunde geht.

In gewöhnlicher Weise nach Koch gegossene Platten bestätigen die an reinen Oberflächenplatten gemachte Beobachtung. Bei Zimmertemperatur zeigen sich nämlich nach 3—4 Tagen je nach der Verdünnung eine entsprechende Zahl von Kolonieen als kreisrund oder elliptisch umschriebene, graubläuliche Scheiben von einigen Zehntel mm Durchmesser. Es sind dies alles in der Gelatine eingeschlossene, sogenannte Tiefenkolonieen. Im durchfallenden Lichte bei schwacher mikroskopischer Vergrößerung zeigen sie keine besonderen Struktureigentümlichkeiten, wohl aber schwach-gelben Farbenton. Oberflächenkolonieen sind zu dieser Zeit nur in verschwindender Anzahl vorhanden und wo sie sich zeigen, läßt sich feststellen, daß sie ihren Ursprung aus nahe der Oberfläche gelegenen Tiefenkolonieen genommen haben. Also auch hier die merkwürdige Erscheinung, daß eine ausgesprochen aërobe Bakterienart sich auf Plattenkulturen scheinbar so verhält, als ob sie den atmosphärischen Sauerstoff fliehe. Scheinbar, denn die vereinzelten oberflächlichen Kolonieen, welche sich bilden, wachsen wochenlang lebhaft weiter, so daß sie unter Umständen einen Durchmesser von mehreren cm erreichen. Auch wenn man, wie oben angegeben, sämtliche Keime auf die frisch erstarrte Gelatine bringt, ist es nicht ausgeschlossen, daß der eine oder andere derselben doch eine Kolonie liefert. Wir erhielten bei Aussaat von mehreren Hunderten von lebenskräftigen Stäbchen mehrfach Ober-

flächenplatten mit nur 1—3 schön ausgebildeten Kolonieen. Dieselben sind im Umrisse nie kreisförmig, sondern mit zungenförmigen Ausläufern versehen, die ihrerseits oft auffallend geradlinig begrenzt sind. Wir möchten diese Kolonieenbilder mit jener Wolkenformation vergleichen, die als „strato-cumulus“ bezeichnet wird. Die Oberfläche der Kolonie zeigt wie Gelatinestrichkulturen einen matten, fettartigen Glanz und im allgemeinen auch die übrigen für die letzteren weiter unten aufgeführten Eigentümlichkeiten.

Gelatinestichkulturen. Das Wachstum ist im oberen Teile des Kanals verhältnismäßig schwach und hört ungefähr in der Mitte desselben ganz auf, ohne Zweifel infolge von Sauerstoffmangel. An der Oberfläche hat sich in 2 Tagen bei Zimmertemperatur um die Einstichöffnung herum eine glanzlose, im Umrisse jeder Regelmäßigkeit entbehrende flache Auflagerung gebildet, deren in Parallelkulturen verschieden gestaltete Ausläufer die Wand des Gläschens kaum zur Hälfte erreichen, sich jedoch in den nächsten Tagen noch weiter ausdehnen. Die Auflagerung nimmt nach und nach einen schwachen Fettglanz an, während die oberen Schichten des Nährbodens infolge einer wenig ausgeprägten Fluorescenz eine weingelbe, ins Grüne spielende Farbe zeigen, am deutlichsten bei einigen Wochen alten Kulturen.

Gelatinestrichkulturen. Nach 2 Tagen bei Zimmertemperatur ausgesprochen glanzloser, im unteren Teile des Strichs etwa 3 mm breiter Belag, im auffallenden Lichte bläulichgrau, im durchfallenden mit schmutziggelber, centraler Partie. Bei geeigneter Beleuchtung sind zu beiden Seiten des Striches senkrecht auf denselben gerichtete feine Liniensysteme zu erkennen. Im weiteren Zeitverlaufe rufen diese mit noch neu hinzutretenden ein an sog. Eisblumen erinnerndes Strukturbild hervor. Nach ca. 8 Tagen ist die Oberfläche der Kultur fettglänzend und die centrale Partie zeigt im durchfallenden Lichte einen schönen Metallschimmer. Die Gelatine färbt sich im Laufe der Wochen dunkelweingelb.

Agarplattenkulturen. Dieselben bringen normalerweise im Gegensatze zu den Gelatineplattenkulturen bei entsprechender Verdünnung zahlreiche Oberflächenkolonieen hervor. Diese letzteren sind außerordentlich dünne, hautartige Auflagerungen, nur im Entstehungscentrum ist eine nicht scharf abgegrenzte, etwas dichtere und daher weißlich scheinende Stelle. Sind nur wenige Kolonieen auf der Platte, so können dieselben bei Bluttemperatur in 24—30 Stunden einen Durchmesser von 2—3 cm erreichen. Der Umriß ist im allgemeinen rundlich, doch finden sich oft lappenförmige Fortsätze oder durch gegenseitigen Einfluß benachbarter Kolonieen entstehende polygonale Figuren. Bei Beobachtung mit Zeiß Oc. 2, Obj. C zeigt sich der Rand sehr scharf und unregelmäßig gezähnt.

Agarstichkulturen. 30° C. Wachstum in der oberen Hälfte des Kanals bedeutend üppiger als in der unteren; mitunter ist der Stich gar nicht in seiner ganzen Länge zu verfolgen. An der Oberfläche entsteht ähnlich wie auf Gelatine eine grauliche fettglänzende Auflagerung, die in 1—2 Tagen die Wand des Reagensglases erreicht. Das obere Drittel der Nährmasse nimmt durch Fluo-

rescenz einen grünlichgelben Farbenton an, welcher sich nach Wochen auf die ganze Tiefe des Nährbodens erstreckt und an Intensität zugenommen hat. Infolgedessen erscheint der an der Oberfläche ausgebreitete Teil der Kolonie bei Betrachtung unter schiefem Winkel grau-schmutzigrot. Bei Verwendung von 5-proz. Glycerin-Agar treten keine wesentlichen Veränderungen in den Wachstumserscheinungen auf.

Agarstrichkulturen. Die gesamte Agar-Oberfläche überzieht sich schnell, bei 30° C innerhalb 24 Stunden mit einem dünnen, graulichen Belag.

Kartoffelkulturen. Auf 0,05 Proz. Sodakartoffeln zeigt sich nach 2 Tagen bei Zimmertemperatur noch fast gar kein Wachstum, bei 30° C nach 2 Tagen ein 2—3 mm breiter, firnisglänzender, wenig über die Kartoffeloberfläche erhabener Belag von schmutzig braunroter Farbe, die in den folgenden Tagen an Lebhaftigkeit gewinnt. Die bei Zimmertemperatur gehaltenen Parallelkulturen bleiben in der Entwickelung bedeutend zurück, namentlich ist die Farbstoffbildung viel weniger ausgeprägt.

Bouillonkulturen. Die Bouillon trübt sich bei 30° C innerhalb 24 Stunden bis zur vollständigen Undurchsichtigkeit. Am Boden sammelt sich eine rötlich-weiße Masse, die beim Aufwirbeln ihren Zusammenhang leicht verliert. Eine deutliche Bakteriendecke bildet sich an der Oberfläche nicht, immerhin ist Neigung dazu vorhanden, wie der an der Glaswand zurückbleibende Belag nach vorübergehend schiefer Lage des Kulturröhrchens zeigt.

Verhalten gegen Farbstoffe. Wässeriges Methylviolett färbt die Stäbchen gut, aber nicht intensiv; Differenzierungen im Plasma treten dabei nicht hervor. Bei Anwendung von Karbolfuchsin hingegen zeigt sich deutlich eine Tendenz der Pole, sich intensiver zu färben als das Mittelstück, bei einzelnen Individuen ist dies in hohem Grade der Fall.

Temperaturverhältnisse. Der Bacillus wächst bei Zimmer- und Bluttemperatur, bei letzterer bedeutend schneller.

Sauerstoffbedürfnis. Dasselbe ist sehr ausgesprochen. Bei gänzlicher Abwesenheit des Sauerstoffs findet überhaupt kein Wachstum statt.

Farbstoffbildung. Kulturen auf leicht alkalischen Kartoffeln produzieren bei Bluttemperatur ein braunrotes, aber in verschiedenen Nuancen wechselndes Pigment. Gelatine und Agar zeigen unter dem Einflusse der wachsenden Kultur schmutzig-grüne Fluorescenz.

Sporenbildung konnte unter keinen Verhältnissen nachgewiesen werden.

Chemisch-physiologisches Verhalten. Mit der vorigen Art auf Nitratbouillon (3—5 g per l) verimpft, ruft der Bacillus lebhafte Gasentwickelung hervor. Der Salpeter wird dabei vollständig zerstört.

Pathogenesis. Subkutane Injektion auf weiße Mäuse hatte keinen Erfolg.

Die soeben beschriebene Bakterienart konnten wir mit keiner der schon von anderer Seite beschriebenen Arten identifizieren. Sie

entspricht auch keiner der ca. 60 von uns seinerzeit aus Rheinwasser isolierten Arten und dürfte daher als neu zu behandeln sein. Das eigentümliche, oben näher erörterte Verhalten in Gelatineplattenkulturen läßt es übrigens sehr wahrscheinlich erscheinen, daß dieses so außerordentlich interessante Bakterium sich der Isolierung bisher entzogen hat. Wir belegen dasselbe, das physiologisch dadurch charakteristisch ist, daß es mit B. coli oder mit B. typhi abdominalis und vielleicht mit noch anderen Arten in Symbiose beträchtliche Mengen von Nitrat oder Nitrit unter Entbindung von elementarem N zersetzen kann, vorläufig mit dem Namen Bacillus denitrificans I[1]). Das Vorkommen von B. denitrificans I in Pferdefaeces muß, nach unseren Versuchen zu schließen, ein ziemlich regelmäßiges, bezw. normales sein. Nur einmal fügte es sich, daß eine ganze Anzahl mit derselben Probe Pferdefaeces geimpfte Salpeterkulturen nicht in Gärung gerieten.

C. Isolierung von Nitrat zerstörenden Bakterien aus Stroh.

a) Vorversuche.

Zur Wiederholung der Versuche von Bréal (l. c.), welcher auf Stroh regelmäßig ein Nitrat reduzierendes „Ferment" gefunden hatte, benutzten wir in Ermangelung von frischem Stroh eine Probe, welche von einer alten Flaschenumhüllung stammte. In zwei große Glasdosen, welche ca. $^1/_2$ Liter sterilisiertes Leitungswasser enthielten, wurden 1 g des zerkleinerten Materials gegeben und die Schalen in einen Wärmeschrank von 30° gestellt. Nach wenigen Tagen war die Nitratreaktion, die das Bonner Leitungswasser immer deutlich giebt, in dem Schaleninhalte nicht mehr zu konstatieren. Da es sich aber dabei überhaupt nur um Spuren von salpetersauren Salzen gehandelt hatte, so war diesem Verschwinden noch keine große Bedeutung beizumessen, da so geringe Mengen auch von den zahlreichen in den Kulturen vorhandenen Mikroorganismen zum Aufbau der plasmatischen Substanz verwendet worden sein konnten. Die beiden Schalen wurden von nun an verschieden behandelt. In Schale a wurde Natriumnitrat in einer Menge, die ca. 1 ‰ entsprach, gegeben; zu Schale b Natriumnitrit in einer Menge, welche nur 0,1 ‰ entsprach. Von Zeit zu Zeit sollte auf Verschwinden der zugesetzten Körper geprüft werden.

Entsprechend der geringen Menge des Zusatzes war bei b schon nach 7 Tagen ein positives Resultat zu verzeichnen. Durch angesäuerte Zinkjodstärke war kein Nitrit mehr nachzuweisen; dasselbe mußte durch einen Reduktionsprozeß verschwunden sein, denn wie eine diesbezügliche Prüfung zeigte, hatte nicht etwa eine Umwandlung in Nitrat stattgefunden. Es wurde nun die gleiche Menge Nitrit

1) Bei der herrschenden Gesetzlosigkeit in der Namengebung für Bakterienarten halten wir nach dem Vorgange mehrerer Autoren daran fest, bei der Wahl des sog. Speciesnamens irgend eine für die Art besonders typische Eigenschaft zu verwerten und weiter zu derselben physiologischen Gruppe gehörende Arten fortlaufend durch Zahlen zu bezeichnen.

wieder zugegeben; diesmal war dieselbe schon nach 5 Tagen verschwunden und nach weiteren Wiederholungen der Zugabe dauerte die Zeit von dem Punkte derselben bis zum Punkte des Verschwindens nur noch 3—4 Tage. Auf diese Weise war bald so viel Nitrit zugegeben und verbraucht, daß die Summe der einzelnen Mengen die der Schale a ursprünglich gegebene Nitratmenge überstieg.

In Schale a dauerte es über zwei Monate, bis mit Diphenylamin und H_2SO_4 keine Reaktion mehr eintrat, d. h. bis sowohl Nitrat als daraus gebildetes Nitrit verschwunden waren. Daß letzteres als Zwischenprodukt in großer Menge auftrat, zeigten gelegentliche Prüfungen mit spezifischen Nitritreagentien.

Daß die Zerlegung in Schale a so lange gedauert hatte, lag wohl weniger darin, daß die Menge des auf einmal zugesetzten Nitrates zu groß gewesen, sondern vielmehr in störenden Einflüssen, die durch zahlreiche andere Bakterien, die mit der Zerlegung des Nitrates nichts zu thun hatten, sich geltend machten. Oder es wirken die Bakterien vielleicht zunächst auf die Kohlenstoffverbindungen des Strohes reduzierend ein, bevor eine energischere Umwandlung von Nitrat in Nitrit und in freien N stattfindet.

Unsere Absicht war es gewesen, möglichst viel Nitrat, bezw. Nitrit zerlegen zu lassen, um auf diese Weise eine Anreicherung der die Zerlegung bewirkenden Organismen zu erzielen. Wie oben bemerkt wurde, hat sich Kultur b in diesem Sinne besser entwickelt als Kultur a. Dieser Umstand war für unsere Zwecke günstig, da wir so wie so b als Ausgangspunkt für die Herstellung von Reinkulturen verwendet hätten, denn erstens war vorauszusetzen, daß in beiden Kulturen (a und b) die Endreduktion durch ein und denselben Organismus veranlaßt worden war, zweitens konnten wir darauf rechnen, daß gewisse Arten, die Nitrat nur bis zu Nitrit reduzieren, in der nur mit Nitrit gespeisten Kultur b ausgeschaltet würden. Als wir aus den beiden Kulturen, welche im Laufe der Wochen ein jaucheähnliches Aussehen angenommen hatten, je eine Oese auf 0,3 Proz. Nitratbouillon überimpften, war nach 4 Tagen in der letzteren kein Nitrat und kein Nitrit nachzuweisen; das Nitrat zerstörende Agens war demnach aus beiden Kulturen in die Bouillon übertragen worden. Eine weitere Ueberimpfung auf sterile Nitratbouillon rief in derselben die nämliche Wirkung hervor; schon nach zwei Tagen bei 30° gaben Diphenylamin und H_2SO_4 keine Spur von Reaktion; hingegen hatte sich unter starker Trübung der Bouillon auf der Oberfläche derselben ein feinblasiger weißer Schaum angesammelt, so daß diese neuesten Kulturen vollkommen das Aussehen der früher beschriebenen hatten, welche mit B. coli und B. denitrif. I geimpft waren.

b) Gewinnung der Reinkulturen.

Eine in starker Gasentwickelung begriffene, aus Schale b stammende Nitratbouillonkultur wurde zur Plattenaussaat verwendet. Auf den Gelatineplatten entwickelte sich scheinbar nur eine Art von Kolonieen, welche denjenigen des Heubacillus sehr ähnlich waren.

Die Kolonieen befanden sich in verschiedenen Stadien der Verflüssigung und aus den extremsten dieser Stadien wurden Spuren

entnommen und in Nitratbouillon übertragen. Die Bouillon trübte sich in beiden Fällen stark, in dem einen Gläschen fand überdies üppige Gasentwickelung statt, was uns einigermaßen überraschte, indem wir unterdessen durch weitere Untersuchung uns überzeugt hatten, daß die verflüssigenden Kolonieen wirklich B. subtilis angehörten. Gerade für diesen letzteren hatten wir gelegentlich anderer Versuche nachgewiesen, daß er allein Nitrate nicht zu zerlegen vermag. Eine Untersuchung einer Spur der Gas entwickelnden Kultur im hängenden Tropfen klärte den Widerspruch auf. Neben den großen Stäbchen des Heubacillus fanden sich zahlreiche von höchstens den halben Dimensionen, die betreffende verflüssigende Kolonie war also verunreinigt gewesen mit einer Stäbchenart, die höchstwahrscheinlich den gesuchten Salpeterzerstörer darstellte. Eine neue Plattenaussaat lieferte wieder zuerst die bekannten verflüssigenden Kolonieen, daneben aber auch viel langsamer wachsende, nicht verflüssigende von tyischem Aussehen. Wurden dieselben für sich allein auf Nitratbouillon verimpft, so trat vor Ablauf von 24 Stunden stürmische Gasentwickelung auf; nach 2—3 $\times$ 24 Stunden war weder Nitrit noch Nitrat in den Kulturen nachzuweisen, ebenso war Ammoniak in nennenswerter Menge nicht vorhanden. Eine nachträgliche Revision jener Originalplatten ließ nun auch die gleichen Kolonieen zwischen den verflüssigenden ganz vereinzelt erkennen; Verimpfungen auf Nitratbouillon hatte ebenfalls Zerstörung sämtlichen Salpeters zur Folge. Es war somit gelungen, aus altem Stroh einen Bacillus zu erziehen, welcher die Fähigkeit besitzt, größere Mengen von Nitriten und Nitraten unter Entbindung elementaren Stickstoffes zu vergären.

D. Beschreibung des aus Stroh isolierten Gärungserregers.

Form, Dimensionen und Lagerung. Aus einen Tag alten Bouillonkulturen bei 37 ° C. Stäbchen von $^3/_4$ μ Dicke und 2—4 μ Länge im hängenden Tropfen gemessen. Stäbchen einzeln oder zu zweien.

Beweglichkeit. Dieselbe äußert sich in schlängelnder Weise unter eigentümlichem Zittern des ganzen Stäbchens. Sehr oft findet man Rotation an Ort und Stelle, wobei entweder die Mitte oder ein Ende des Stäbchens das Rotationscentrum bildet. In zwei Tage alten Agarkolonieen war die Bewegung lebhafter als in jungen Bouillonkulturen.

Gelatineplattenkulturen. Oberflächenkolonieen sind für die Art sehr charakteristisch. Nach drei Tagen haben dieselben 1 bis 2 mm Durchmesser. Der Umriß ist im allgemeinen kreisrund. Schon von bloßem Auge, aber besser mit der Lupe sieht man mehr oder weniger radial verlaufende Rippen, welche dem Ganzen ein rosettenartiges Aussehen verleihen. Je größer die Kolonie, um so zahlreicher die wulstartigen Rippen, die sich nicht selten gabelig verzweigen und mit anderen verbinden, bezw. am Rande der Kolonie zu rundbogenartigen Formen zusammentreten. Die Bakterienmasse ist übrigens trocken und zähe, so daß scheinbar nicht davon abgeimpft werden kann; mit Leichtigkeit gelingt es hingegen, durch Anspießen

die ganze Kolonie als Kuchen unbeschädigt von der Gelatineplatte wegzunehmen. Vom 3.—4. Tage an nahmen die Kolonieen an Größe nicht mehr zu und bewahrten durch Monate hindurch ein unverändertes Aussehen.

Tiefenkolonieen sind ebenfalls charakteristisch. Dem Auge erscheinen sie punktförmig, weißlich, bei schwacher Vergrößerung schmutziggelb, von kreisrunder, elliptischer oder spindelförmiger Begrenzung. Der Rand ist immer lappig-kerbig. Die Kolonie setzt sich ähnlich wie ein zusammengesetztes Stärkekorn aus unregelmäßig polyedrischen Elementen zusammen und zeigt daher von oben besehen je nach dem Stadium der Kolonie mehr oder weniger ausgeprägte Felderung.

Gelatinestichkulturen. Der ganzen Länge des Impfkanals entlang ziemlich gleichmäßiges Wachstum in Form eines schmalen, weißlichen Streifens, der sich aus kugeligen, bezw. eiförmigen Einzelkolonieen zusammensetzt. Um die Einstichöffnung herum bildet sich ein den oberflächlichen Plattenkolonieen ganz ähnliches Gebilde, dessen Durchmesser nach acht Tagen bei Zimmertemperatur 3—4 mm erreicht. Verflüssigung findet selbst nach Monaten nicht statt.

Gelatinestrichkulturen. Die Kulturen beginnen dem Impfstrich entlang als grauliche, mattglänzende, schmale Streifen, welche an der Oberfläche ein System von wulstförmigen Rippen tragen. Stellenweise sind diese Rippen wie die Sprossen einer Leiter quer zur Impfstrichrichtung verlaufend. Nach 3—5 Tagen nimmt der centrale Teil der Kolonie eine mehr schleimige Beschaffenheit an und gewinnt an Glanz. Die Ränder der Kultur hingegen erzeugen immer noch neue Wülste und lassen die letztere gegen die freie Gelatine hin in mannigfacher Weise gezähnelt und gefranst erscheinen.

Agarplattenkulturen. 37° C. Nach 1—2 Tagen bieten die oberflächlichen Kolonieen ungefähr das gleiche Bild, wie die auf jungen Gelatineplatten. Nach einigen Tagen jedoch werden die Ränder der Kolonie verwaschen, es bildet sich ein graulicher, nach außen gegen das Agar nicht scharf abgegrenzter Hof, der zuletzt das Doppelte des Durchmessers der ursprünglichen Kolonie erreicht. Letztere hat ihr charakteristisches Gefüge zum größten Teile verloren, nur einige, meist von einem gemeinsamen Centrum ausgehende dünne Fäden, das Skelett der früheren wulstartigen Rippen, erinnern an das ursprüngliche Bild der Kolonie. Der Hof ist, wie zu dieser Zeit die ganze Kolonie, vom zähen Zustande in einen schleimigen übergegangen und läßt mitunter konzentrische Zonen erkennen.

Agarstichkulturen. Das Wachstum beginnt wie in Gelatine. Die Auflagerung um die Einstichöffnung herum nimmt jedoch an Umfang schnell zu und gleichzeitig verwischen die ursprünglichen wulstförmigen Rippen. Nach 8 Tagen hat die Auflagerung, die jetzt einen schleimigen Glanz und keine Struktureigentümlichkeiten zeigt, die Wand des Kulturgläschens erreicht und die Konturen der Kolonie im Stichkanale sind verwaschen, ähnlich wie diejenigen gleichalteriger Agarplattenkolonieen.

In Glycerinagar findet keine Gasbildung statt.

Agarstrichkulturen. Im Anfange treten gleiche Wachs-

tumserscheinungen zu Tage wie auf Gelatine. Nach 2—3 Tagen jedoch verschwinden die eigentümlichen Strukturverhältnisse nicht nur in der Mitte, sondern auch an den Rändern der Kultur. Diese erscheinen im Gegensatze zu dem für Gelatine beschriebenen Verhalten sehr flach und vom Nährboden undeutlich abgegrenzt. Immerhin zeigt auch hier die centrale Partie im Laufe der Zeit den stärksten Glanz.

Kartoffelkulturen. Auf 0,05 Proz. Sodakartoffeln wächst der Bacillus sehr üppig. Die auf dem durchsichtigen Nährboden bezeugte Tendenz, wulst- oder rippenförmige Zusammenlagerungen von Bacillen zu bilden, macht sich auch hier bemerkbar, nur sind hier diese Gebilde mannigfach verschlungen, dabei Löcher und Höhlen bildend. Diese Partie, meist nur im oberen, trockenen Teile der Kartoffel typisch entwickelt, kann sich 2—5 mm über die Kartoffelfläche erheben, während im unteren, länger saftig bleibenden Teile nach kurzer Zeit ein Verschleimungsprozeß, ähnlich wie auf Agarplatten, eintritt, welcher den Kolonieen ein flächenhaftes, schmierig-glänzendes Aussehen verleiht. Die ganze Kultur, aber namentlich der schleimige Teil zeigt deutliche Rotfärbung, die von blaßer Fleischfarbe bis in Pfirsichrot hinüberspielt. Bei Bluttemperatur tritt die Färbung lebhafter hervor als bei Zimmertemperatur.

Bouillonkulturen. In gewöhnlicher Nährbouillon bildet sich nach kurzer Zeit sowohl bei Zimmertemperatur als auch bei Bluttemperatur eine deutliche, zusammenhängende Decke an der Oberfläche, während sich die darunter befindliche Bouillon gleichmäßig trübt. In 0,3 Proz. Nitratbouillon tritt nach 20—24 Stunden Gasbildung ein nnd die einzelnen Blasen sammeln sich auf der Flüssigkeit als weiße, im Reagenzglase 1—2 cm hohe Schaumschicht. Am Grunde des Gläschens sammelt sich weißlicher Bodensatz, welcher beim Aufwirbeln sich nicht in der Flüssigkeit zerteilt, sondern sich als schraubenartig gewundener Strang erhebt, der mit der Basis am Grunde des Gläschens haftet.

(Forts. folgt.)

Bacillus tracheiphilus sp. nov., die Ursache des Verwelkens verschiedener Cucurbitaceen.

Von

Dr. Erwin F. Smith[1].

Im August 1893 teilte ich die Resultate meiner Untersuchungen über das Verwelken verschiedener Cucurbitaceen der Am. Assoc. Adv. Science bei ihrer Versammlung zu Madison mit; dieselben wurden den „Proceedings" für 1893 einverleibt und finden sich teilweise in der Botanical Gazette, Sept. 1893, abge-

1) Division of Vegetable Pathology, Depart. of Agriculture, Washington, D. C., U. S. A.

druckt. Im Jahre darauf, August 1894, besprach ich dieselbe Krankheit nochmals vor dem Botanical-Club der Am. Assoc. Adv. Science bei Gelegenheit ihrer Versammlung in Brooklyn und zeigte eine Anzahl von Mikrophotographieen, welche die Gewebe im gesunden und kranken Zustande darstellen. Gefärbte Schnitte von in Paraffin eingebetteten Teilen mit Mengen von Mikroorganismen in situ kamen ebenfalls zur Ausstellung.

Trotz vieler Versuche waren zu dieser Zeit Infektionen mit reinen Kulturen noch nicht geglückt, und es blieb auch die Ansicht, daß die Krankheit gewöhnlich durch Insekten übertragen werde, eine bloße Vermutung. Da nun schließlich sowohl die Infektionen mit reinen Kulturen als auch die Uebertragung durch Insekten mit Erfolg durchgeführt wurde, so dürfte eine vorläufige Mitteilung trotz unserer noch etwas lückenhaften Kenntnisse der biologischen Merkmale dieses Bacillus doch von Interesse sein.

Eine neue Versuchsreihe, welche am 1. Sept. 1894 in einem für Ananas bestimmten Gewächshause mit Gurken, Melonen und Kürbisen begonnen wurde, wird noch gegenwärtig fortgesetzt. Etwa dreißig Gurkenpflanzen wurden durch Impfungen mit in Nährlösungen und auf Agar und Kartoffeln gezogenen Reinkulturen infiziert, und bei einer geringeren Anzahl wurde die Krankheit durch mit Bacillen bespritzten Insekten (Diabrotica vittata Fabr. u. Coreus tristis de Geer) hervorgebracht. Unter den vielen Versuchen der letzten fünf Monate ergaben etliche Serien der Blattimpfungen bis zu 100 Proz. positive Resultate. Folgendes als Beispiel:

Kulturen und Impfungen.

1) 1. Sept. Ein im Garten erkranktes Exemplar einer Gurkenpflanze wurde untersucht. Blätter verwelkt und verschrumpft; Stengel grün, turgescent, seine Gefäße mit Bacillen angefüllt; Stengel-Parenchym unbeschädigt. Milchweiße Tropfen, welche aus den bloßgelegten Gefäßenden hervorquellen, scheinen bei Vergrößerung nur mit Bacillen angefüllt zu sein. Pilze sind nicht vorhanden.

2) Am selben Tage, 1. Sept., wurde eine Gurkenpflanze (No. 2) im Gewächshause mit der weißen, klebrigen Flüssigkeit aus den Gefäßen der eben besprochenen Pflanze vermittelst feiner Nadelstiche auf der Spreite eines einzigen Blattes geimpft. Erst am vierten Tage machten sich Symptome bemerkbar: Verwelken des Blattes trat ein und teilte sich nach und nach anderen Blättern mit. Am 17. Sept. zeigten sich die Gefäße der noch grünen Ranke mit Bacillen verstopft.

3) 17. Sept. Uebertragung von Flüssigkeit aus den Gefäßen der letztgenannten Pflanze in Fleischbrühe. Mehrere Reinkulturen wurden erzeugt und in weiteren Experimenten benutzt.

4) 27. Sept. Von einer dieser Reinkulturen wurden mehrere in schräger Lage erstarrte Präparate von etwas alkalischem Fleischextrakt-Peptonagar infiziert. Einige gaben einen homogenen, dünnen, weißen, glänzenden Ueberzug längs des Impfstriches; andere gaben am oberen Ende des Agars nur zerstreute Kolonieen.

5) 17. Okt. Schräggeschnittene Kartoffelcylinder wurden von einer einzelnen Kolonie des vorigen infiziert.

6) 12. Nov. Eine zweite Kartoffelkultur von der vorigen.

7) 15. Nov. Kultur auf Kartoffelbrühe von der vorigen.

8) 20. Nov. In schräger Lage erstarrte Masse von nicht filtriertem, etwas alkalischem Kartoffelagar (Kartoffel weich gekocht und dann dem Agar beigemischt). Die Bacillen gediehen auf dem Gemische jedoch nur, wenn letzteres alkalisch war.

9) 3. Dez. Kartoffelkultur vom vorigen.

10) 6. Dez. Kultur vom vorigen auf schief geschnittenem Kartoffelcylinder. Am 10. des Monats war auf diesem eine homogene Kultur desselben Organismus, mit welchem am 1. September die Reihe begonnen war, aufgegangen. Der Ueberzug war etwas dünn, dünnrandig, glatt, weiß, naßglänzend, sehr klebrig; er bestand nur aus Bacillen, von welchen mehr als die Hälfte sich bei Beobachtung eines hängenden Tropfens als sich lebhaft bewegend erwiesen. Diese Kultur wurde zur weiteren Infektion von Pflanzen benutzt, von welchen folgendes als Beispiel dienen möge:

11) 10. Dez. Gurkenpflanze (No. 96). Infektion eines dem Ende der Ranke nahen Blattes zu beiden Seiten der Hauptrippe nahe der Spitze der Spreite. Erstes Symptom am 6. Tage, bestehend aus einem welken Flecken, welcher mit einer Spitze am Punkte der Impfung beginnt und von hier sich nach der Richtung der Haupt- und Nebenrippen gegen die Spitze des Blattes ausbreitend den ganzen distalen Teil der Spreite einnimmt. Später schreitet das Verwelken abwärts. In 12 bis 18 Stunden hingen die apikalen $^2/_3$ des Blattes welk herab; in 48 Stunden war die ganze Spreite, in weiteren 2 Tagen auch der Stiel verwelkt. In $4\,^1/_2$ Tagen vom Erscheinen der Krankheit an war auch die Spitze der Ranke vom geimpften Blatte aufwärts mit allen ihren Blättern von derselben ergriffen, jedoch waren die Blätter unterhalb des geimpften noch im frischen Zustande. In $5\,^1/_2$ Tagen vom Beginne der Symptome war das nächste Blatt unterhalb des geimpften welk und in weiteren 28 Stunden sank auch das 2. Blatt. 14 Tage nach der Impfung zeigten sich die Gefäße der noch grünen Ranke mit Bacillen verstopft. Die Bacillen waren teilweise beweglich und ließen sich mit der Nadel in mehrere Centimeter lange, klebrige Faden ausziehen.

12) 24. Dez. Kartoffelbrühe mit Flüssigkeit vom Stamminnern der eben beschriebenen Ranke infiziert, war am 3. Tage leicht getrübt. Beim Schütteln werden diese Organismen rauchwolkenähnlich kreisend bewegt. Beobachtung eines hängenden Tropfens zeigt einen großen Teil der Bacillen mit lebhafter Eigenbewegung. Auf einem schiefgeschnittenen Kartoffelcylinder, welcher am 27. Dez. von der letztgenannten Kultur infiziert wurde, entwickelte sich ein Ueberzug von Bacillen, welche in jeder Beziehung mit den vorher besprochenen (No. 10) sich als identisch erwiesen, dasselbe beschränkte Wachstum besaßen, sich zu denselben dünnen, weißen, glatten, nass-glänzenden, klebrigen Schichten entwickelten und teilweise dieselbe Eigenbewegung besaßen.

13) 28. Dez. Ein in schräger Lage erstarrter, etwas alkalischer Fleischextrakt-Pepton-Agar wurde mit ebengenannter Kartoffelbrühe infiziert. Ein 3—4 mm breiter, scharfbegrenzter Streifen entwickelte

sich langsam und war zuerst sehr dünn und kaum bemerkbar, wurde aber innerhalb 6 Tagen sichtbar weißlich und entschieden klebrig. Zu dieser Zeit untersucht, zeigten viele der Bacillen entschiedene Eigenbewegung.

14) 3. Jan. Eine junge Melonenranke (No. 111a) wurde von voriger Kultur auf der Spreite eines einzigen Blattes geimpft. Am 5. Tage zeigte sich an der Impfstelle ein kleiner verwelkter Fleck. In etwas weniger als 2 Tagen war die ganze Spreite des kleinen Blattes verwelkt. Am 8. Tage teilte auch das erste Blatt oberhalb da selbe Schicksal. In dem am 9. Tage untersuchten Rankenstamm fanden sich zahlreiche Bacillen in den Gefäßen vor. Ein Teil derselben besaß deutliche Eigenbewegung. Von derselben Agarkultur (No. 13) wurden 7 andere Melonenranken geimpft. 5 derselben erkrankten am 5., 1 am 8., eine am 9. Tage nach der Impfung. Die Impfung fand übereinstimmend an der Blattspreite statt und war auch der Gang der Zerstörung in allen Fällen derselbe, mit einer Verwelkung der Impfstelle beginnend, und von allen charakteristischen anatomisch-pathologischen Merkmalen begleitet.

15) 12. Jan. Eine Melonenranke (No. 116) wurde durch Nadelstiche an der Blattspreite eines einzigen Blattes mit Flüssigkeit vom Stamminnern des vorigen geimpft. Am 9. Tage waren am geimpften Blatte die ersten Symptome bemerkbar. Am 10. Tage, als die geimpfte Spreite völlig verwelkt war, zeigten sich bei mikroskopischer Untersuchung der Pflanze die Gefäße des unteren Teiles des Blattstieles sowohl, als auch die der benachbarten Stammteile mit großen Mengen von Bacillen angefüllt, wovon die Mehrzahl deutliche Eigenbewegung besaß.

Biologie des Organismus.

Form etc.: Bacillus oft 2—3mal so lang als breit; mittelgroß, einzeln, häufig auch zu zweien verbunden, seltener in Fäden von vier Gliedern vorkommend. In der Nährpflanze schwanken sowohl Breite als Länge, besonders aber die letztere. Viele Stäbchen sind 1,2—2,5 $\times$ 0,5—0,7 μ, jedoch kommen längere und kürzere, schlankere und dickere vor. Auf Kulturen schwanken die Dimensionen noch mehr als in der Nährpflanze, und sind dieselben wahrscheinlich vom Alter der Mikroorganismen, von der Art der Kultur und auch von den Farblösungen abhängig. Obwohl im jugendlichen Stadium in Nährpflanze und Kulturen mit lebhafter Eigenbewegung begabt, geht doch diese Eigenschaft schon frühzeitig verloren. Große Klebrigkeit besitzend, quellen die Bacillen aus bloßgelegten Stammbündeln in milchweißen Tropfen hervor[1]). Diese Tropfen lassen sich mit der Nadel oder der Oese zu sehr zarten, oft 20—40 und mehr Centimeter langen Fäden ausziehen. Ursache dieser Klebrigkeit scheint eine gequollene und teilweise verflüssigte Kapsel zu sein, welche sowohl bei sorgfältiger Beobachtung ungefärbter Präparate, als auch bei speziellen Färbungen sichtbar wird. Sporen wurden weder in Nährpflanzen noch auf Kulturen beobachtet.

---

1) Diese Tropfen sind nicht mit den blassen, perlähnlichen, geronnenen Tropfen, welche häufig aus Siebröhren verschiedener Cucurbitaceen austreten, zu verwechseln.

Anatomische Veränderung in der Nährpflanze: Das Verwelken des Parenchyms der geimpften Blattspreite und die Veränderung der Farbe, von lebhaft- zu mattgrün, scheint mehr auf Unterbrechung der Wasserleitung, als auf eigentlicher Zerstörung der Gewebe zu beruhen, verlangt jedoch genauere Untersuchung. Ehe das Welken die ganze Spreite des geimpften Blattes einnimmt, sind die Bacillen oft schon in den Stengel der Pflanze eingedrungen, und zwar stets die Gefäßlumina des Blattes als Pfad benützend. Im Stamme sind es auch die mit den Gefäßen des Blattes in offener Verbindung stehenden Schraubengefäße, welche sich zuerst mit Bacillen erfüllen, und bilden dieselben in den ersten Stadien der Krankheit den einzigen angegriffenen Teil des Stengelgewebes. Hierauf verbreiten sich die Bacillen auch auf die viel größeren Tüpfelgefäße, welche sie mehr oder weniger verstopfen. Bisweilen sind alle Bündel eines Stengels ergriffen, aber nur in einzelnen Fällen füllen sie alle Gefäße eines Bündels. Im Anfange tritt keine Zerstörung der Membranen ein. Jedoch bald und zu einer Zeit, wo noch alle äußeren Teile des Stengels grün und turgescent erscheinen und noch keine Krankheitserscheinungen sichtbar sind, lösen sich die Gefäßwände auf und es treten an Stelle der Gefäße große, weit in das umgebende dünnwandige und unverholzte Vasalparenchym hineinreichende mit Bacillen erfüllte Höhlen auf. In späteren Stadien, zur Zeit der Verschrumpfung des Stengels oder auch schon etwas früher, sind alle inneren Gewebe in Mitleidenschaft gezogen und teilweise zerstört, jedoch kommt es nie zu einem naßfaulen Zustande und bleibt die Epidermis auch bis zur gänzlichen Verdorrung unzerstört.

Nährlösungen: Dieser Bacillus gedeiht in Fleischbrühe, Fleischbrühe mit Pepton, Kartoffelbrühe, Dunhamslösung (1 Proz. Pepton und $^1/_2$ Proz. NaCl in Wasser aufgelöst) etc. Sie bilden keine Kahmhaut oder ausgesprochene Niederschläge, aber die Flüssigkeit wird in allen Fällen ganz leicht getrübt. Beim Schütteln kreisen die Bacillen in rauchwolkenähnlicher Bewegung, welche mit dem Aufhören des Schüttelns sogleich wieder aufhört und mit der Eigenbewegung der Bacillen verloren geht. Alte Kulturen auf Kartoffelbrühe wurden oft zähflüssig und ließen sich mit der Oese, frischer Schmierseife ähnlich, 1—2 Centimeter weit ausziehen. Gewöhnlich waren alle, „stets die meisten der Bacillen solcher zähflüssigen Kulturen tot.

Gelatine. Auf normaler Fleischwasser-Pepton-Gelatine wächst dieser Bacillus sehr langsam und kümmerlich. Häufig bleibt jedes Wachstum aus; wo ein solches vorkam, war es gering, beschränkt und kaum bemerkbar. Wiederholte Versuche mit Platten, Rollröhrchen, Strich- und Stichkulturen gaben dieselben Resultate. Der Bacillus verflüssigt die Gelatine nicht.

Agar. Auf normalem Fleischextrakt-Pepton-Agar wächst dieser Bacillus als ein dünner, glatter, naß-glänzender, milchweißer, gewöhnlich etwas klebriger Ueberzug, verbreitet sich aber nur wenig von der Impfstelle. Auf mit 1 Proz. Saccharose vermischtem Agar war der Ueberzug auf Strichkulturen kaum bemerkbar und zeigte sich die deutliche weiße Farbe erst nach vielen Tagen und auch dann

nur an dem unteren, mit Flüssigkeit versehenen Teile des Striches. Strichkulturen auf anderen Nähragaren gaben verschiedene Resultate in betreff des Wachstumsganges. In Stichkulturen bildet der Bacillus einen beschränkten dünnen Ueberzug auf dem Rande des Nadelstiches, entwickelt sich aber auch in dem Agar der ganzen Länge des Stiches entlang und bildet allmählich 1—2 Millimeter lange, fingerähnliche, unter der Lupe feinkörnige Vorsprünge, welche sich oft zu zierlichen, schleifenähnlichen Gebilden vereinigen.

Kartoffel. Der Bacillus gedeiht auf schräggeschnittenen Kartoffelcylindern, bildet einen ziemlich dünnen, glatten, weißen, naß-glänzenden Ueberzug, welcher sich nur wenig von der Impfstelle aus verbreitet, keinen zerstörenden Einfluß auf die Kartoffel zeigt, in der Farbe der frisch gedämpften Kartoffel sehr ähnlich ist und sich von derselben nur durch das sehr gleichmäßige, naß-glänzende Aussehen unterscheidet. Die Farbe dieses Bacillus ist viel weißer als die der meisten Bakterien, vielleicht wird er am genauesten mit „grauweiß“ bezeichnet, wenn nicht zu viel Gewicht auf „grau“ gelegt wird; oder als „milchweiß“, jedoch mit Ausschluß aller gelben Nüancen. Alte getrocknete Kulturen verlieren ihr naß-glänzendes Aussehen, bleiben sich im übrigen fast gleich, erzeugen keinerlei Farbstoff und verursachen keine Veränderung in der Farbe der Kartoffel. Der Ueberzug auf Kartoffeln wird gewöhnlich mehr oder weniger klebrig. In manchen Fällen ist diese Klebrigkeit so sehr entwickelt, daß mit der Oese zarte Fäden von großer Länge, 4—40 Centimeter, in einem Falle 53 Centimeter, ausgezogen werden können.

Auf Cylindern von gedämpfter Süßkartoffel zeigt dieser Bacillus nur ein sehr geringes, kaum sichtbares Wachstum.

Gärungskölbchen. Mit Dextrose, Saccharose, Laktose, Maltose, Dextrin und Cellulose in Fleischbrühe mit Pepton wurden Untersuchungen gemacht. Gase entwickelten sich nicht. Der Bacillus ist aërobisch und scheint auch in Gegenwart von gewissen Kohlehydraten fakultativ anaërobisch zu sein. In Versuchen mit Milch stellte sich keine Gerinnung ein, selbst nicht nach mehreren Wochen, und diese konnte auch nicht durch Sieden hervorgebracht werden. Auch kam es zu keinem zähflüssigen Zustande. Die Gärungsversuche sind nicht vollendet.

Säure und Alkali. In alkalischen Nährstoffen gedeiht der Bacillus, nicht aber, oder doch nur kümmerlich, in sauren Medien, doch sind über diesen letzteren Punkt die Versuche noch nicht vollendet.

Wärme. Dieser Bacillus ist gegen Hitze äußerst empfindlich. Bei 43° C reicht schon ein 10 Minuten langes Aussetzen hin, um eine Kultur in Nährlösung zu töten. Längeres Andauern von niedrigeren Temperaturen, 42°, 41°, 40° C während 15, 20, 25, 30 etc. Minuten verursacht zwar nicht den Tod, jedoch trüben sich die Reagenzgläschen so langsam, daß sie mehrere Tage lang steril erscheinen, nachdem schon die Kontrolllösungen sich leicht getrübt haben. Temperaturen von über 43° C töten den Organismus in verhältnismäßig kürzerem Zeitraume. Immersion des Glases in auf 45° C erwärmtem Wasser während 5 Minuten, welches eben hinreicht, um

die Nährlösung selbst auf diesen Punkt zu bringen, sterilisiert die Lösungen vollständig.

Trockene Luft. Motile Organismen von jungen Kulturen in Nährlösungen sind gegen trockene Luft sehr empfindlich. Tropfen von verschiedenen Kulturen, von Flüssigkeiten und festen Nährböden auf sterilisierten Deckgläschen während einer Anzahl Tage, Stunden oder Minuten getrocknet und dann in Nährlösung gebracht, ergaben stets negative Resultate, bis zuletzt die Zeit des Trocknens für die aus Lösungen stammenden Bacillen auf weniger als eine halbe Stunde verkürzt wurde. Versuche mit von Bacillen wimmelnden Tropfen ergaben keine positiven Resultate, auch selbst dann, wenn nur 15 Minuten nach Verflüchtigung der Flüssigkeit vergangen waren (25 Minuten nach dem Ausheben des Tropfens aus der Nährlösung), während die Kontrolle, von derselben Kultur geimpft, eine leichte Trübung schon innerhalb 48 Stunden zeigte. Wenn aber Tropfen von solchen Kulturen nach dem Austrocknen nur 10 Minuten lang der Luft ausgesetzt blieben, ergaben sich positive Resultate.

Lebensdauer auf verschiedenen Nährböden. In Nährlösungen und auf Kartoffel und Agar tritt der Tod schon häufig innerhalb 3 Wochen ein. An dem noch feuchten unteren Teile schräger Flächen von Agar fanden sich mehreremale lebende Bacillen noch nach 4 Monaten vor. Weiteren Untersuchungen fällt es zu, uns über diesen Punkt völligen Aufschluß zu verschaffen.

Färbung. Mit vielen Anilinfarben färbt sich der Bacillus nur unvollkommen; besser mit Karbolfuchsin.

Der Kapsul wurde bei Anwendung der Bunge'schen Methode sowohl mit Karbolfuchsin als auch mit Karbolgentianviolett gut gefärbt, und zeigten sich die Stäbchen in diesem Falle viel breiter, als bei Anwendung von nicht gebeizten Farblösungen. Die Geißeln wurden auch mit derselben Methode tingiert, doch sind schöne Präparate bis jetzt noch nicht gelungen. Etliche Stäbchen haben nur zwei Geißeln, eine auf jedem Pole; andere aber scheinen mit mehreren besetzt, und muß deshalb eine genauere Bestimmung sowohl der Anzahl als auch der Ansatzstelle durch vollkommenere Präparate festgestellt werden.

Da die Gewebe der Nährpflanzen und namentlich die Gefäßbündel die Färbung besser aufnehmen und festhalten, gelang die Färbung des Bacillus in der Nährpflanze erst nach vielen Versuchen. Diese Schwierigkeit wurde dadurch überwunden, daß die Schnitte erst 10—15 Minuten in starke, wässerige Lösung von Tannin eingelegt, in Wasser gewaschen und sodann in wässeriger Lösung von Gentianaviolett gefärbt wurden. Diese Färbung läßt sich nun mit Alkohol aus den verholzten Gefässen entfernen, ohne die Bacillen zu entfärben, so daß große Mengen derselben scharf begrenzt auf einem nur sehr leicht gefärbtem Hintergrunde erscheinen. Bei Anwendung dieser Methode sollte man aber die Schnitte nicht zu lange in Alkohol lassen, sonst wird alles entfärbt.

Bemerkungen.

Da die Mehrzahl der beschriebenen Versuche an Gurken und Melonen gemacht wurden, so ist es noch unentschieden, ob auch die Krankheit der Kürbisse ursächlich mit dieser ganz identisch ist. Für ihre Identität sprechen: 1) Aehnlichkeit der Symptome; 2) Gegenwart eines ähnlichen Bacillus in den Gefäßen; 3) 3 Fälle von erfolgreicher Impfung (1893 im Garten) an Blättern von gesunden Kürbissen mit der milchähnlichen Masse von Bacillen aus den Gefässen einer erkrankten Kürbispflanze, bei welchen die geimpften Blätter in 8—10 Tagen erkrankten, auch die Blätter ober- und unterhalb der Verwelkung erlagen, und die Gegenwart der Bacillen mikroskopisch nachgewiesen wurde; 4) Ein Fall (1894 im Gewächshause) von Impfung einer Gurkenpflanze mit dem weißen Inhalte (Bacillen) der Gefäße einer erkrankten Kürbispflanze, bei welcher die ersten Symptome sich nach 8 Tagen bemerkbar machten, eine vollständige Erkrankung erfolgte und nachherige mikroskopische Untersuchung stattfand. Der Fall war von vieren der einzige erfolgreiche. Als negative Erfolge von diesbezüglichen Versuchen sind zu nennen eine Anzahl erfolgloser Impfungen von Kürbispflanzen im Winter 1894/95, bei welchen die Lebensfähigkeit der Bacillen sorgfältig mit dem Mikroskope und durch Kulturen festgestellt und ihre Virulenz an Gurken und Melonen durch Impfungen geprüft wurde. Alle diese erfolglosen Impfungen wurden an Blattspreiten ausgeführt.

Da eine in den Vereinigten Staaten herrschende Krankheit der Kartoffel und der Liebesäpfel ursächlich als identisch mit der hier bebeschriebenen Krankheit der Gurken und Melonen angegeben worden ist (Dr. Halsted), und da auch eine wohlbekannte, durch Bakterien verursachte Krankheit des Birnbaums, eine andere der Hyacinthe beschrieben worden sind, so wurden viele Impfungen mit diesen Pflanzen vorgenommen. Obwohl in allen Fällen Bacillen von Reinkulturen benützt wurden, deren Lebensfähigkeit mikroskopisch und auch durch Kontrollkulturen und deren Virulenz durch Impfungen auf Gurken und Melonen streng geprüft worden waren, ist nicht eine einzige Impfung bis jetzt geglückt.

Zum Beweise, daß die oben beschriebenen Resultate durchaus nur von den Infektionen herrührten und nicht etwa teilweise auf Zufälligkeiten beruhten, möge hier angeführt werden, daß nicht eine einzige Kontrollpflanze während der ganzen 5 Monate erkrankte.

Gewöhnlich wurden die ersten Symptome am 7.—8. Tage bemerkbar. Die kürzeste Zeit zwischen Impfung und den ersten Krankheitserscheinungen war 4, die längste 20 Tage.

Die Temperatur, bei welcher die verschiedenen Kulturen gemacht worden, schwankte zwischen 20—27° C. Die Temperatur des Gewächshauses im Laufe des 5. Monats schwankte zwischen 10° und 30° C; gewöhnlich wurde es 20—25° C bei Tage und bei Nacht etwas weniger.

Für denjenigen, der sich mit dieser Krankheit zu beschäftigen Ursache hat, dürfte es von Interesse sein, zu wissen, daß der Bacillus keinen bemerkbaren Geruch weder in sich selbst noch in der Pflanze verursacht, daß er nicht irisiert oder leuchtet, keine weiß-

liche Efflorescenz besitzt und nicht runzlig wird oder sich anhäuft.

Es bereitet stets große Schwierigkeit, einen Mikroorganismus mit solcher Genauigkeit zu beschreiben, daß er auch von Anderen leicht und bestimmt erkannt werden kann und daß seine sichere Bestimmung dem Autor selbst, wenn er außerhalb des Wirts, in Luft, Wasser oder Erde sich vorfindet, möglich ist. Aus diesem Grunde wurde eine Veröffentlichung dieser Untersuchungen auch bisher aufgeschoben, um erst durch eine hinreichende Anzahl von Experimenten die notwendigen Merkmale festzustellen. Viele dieser oft sehr zeitraubenden Experimente können in dieser Mitteilung nicht einmal aufgezählt werden, sollen jedoch in einer weitläufigeren Abhandlung, mit genauer Beschreibung der angewandten Methoden, veröffentlicht werden. Die Art der Infektion, der Weg des Krankheitserregers, die von ihm speziell angegriffenen Gewebe und die durch ihn hervorgebrachten Krankheitserscheinungen und Gewebezerstörungen sind jedoch so eigentümlich, daß sie, in Verbindung mit den oben angeführten morphologischen und biologischen Charakteren, keinen Zweifel daran lassen, daß wir es hier mit einer unbeschriebenen Art von Bacillus zu thun haben, welche wegen ihrer Vorliebe für die verschiedenen Gefäßbündel sehr wohl mit dem Namen Bacillus tracheiphilus benannt zu werden verdient.

Vielleicht ist keines der angegebenen Merkmale, welches nicht auch irgend einem anderen, beschriebenen oder unbeschriebenen Bacillus eigen ist, doch die eigentümliche Kombination der Merkmale unterscheidet diesen Bacillus von jeder beschriebenen, dem Autor bekannten Art. Andere Merkmale werden wahrscheinlich durch weitere Untersuchungen noch hinzugefügt werden.

Die Ursache der leichten Fortpflanzung in, sowie der anfänglichen Beschränkung der Bacillen auf die Gefäßlumina scheint der entschieden alkalische Inhalt, im Gegensatze zum Safte des Parenchyms, welcher stets sauer reagiert. Obwohl dieser Bacillus im Safte des Gurkenparenchyms, welcher mittels Filtration durch Chamberland-Filter sterilisiert wurde, noch wächst, so erfolgt doch die Trübung nur langsam, selbst wenn die Flüssigkeit mit großen Mengen beweglicher Stäbchen geimpft wurde. Daß der Inhalt der Gefäße wirklich alkalisch ist, wurde durch Anwendung von neutralem und auch rotem Lackmuspapiere festgestellt. Blaue Flecke, in Anzahl und Stellung mit den Gefäßbündeln korrespondierend, wurden dadurch hervorgebracht. Da es jedoch möglich erschien, daß die alkalische Flüssigkeit von den Siebröhren, welche selten oder gar nicht vom Bacillus angegriffen werden, herrühre, so wurde die Natur des Inhalts der Xylemgefäße genauer untersucht, indem 2—3 mm lange Stammsegmente aufrecht in eine frische, beinahe neutrale, wässerige Lösung von Lackmus gesetzt wurden, wobei die blaue Reaktion, welche auf das kapillare Aufsteigen der Lösung in die Gefäße folgte, unter dem Mikroskope direkt zur Beobachtung gelangte. In kleineren Gefäßen wurde bisweilen das ganze Lumen violett oder blau, während in größeren getüpfelten Gefässen häufig ein blauer Streifen den Rand des Gefässes auskleidete. Verschiedene andere In-

dikatoren wurden angewandt, jedoch zeigte sich eine sensitive Lösung von Lackmus am geeignetsten. Der Saft des Parenchyms war wiederholt mit blauem Lackmus untersucht worden, und entsprach die Reaktion so vollkommen der allgemein angenommenen Ansicht, daß der Pflanzensaft sauer oder neutral sei, daß die Möglichkeit, daß der Gefäßinhalt alkalisch reagieren könnte, erst dann sich aufdrängte, als das Wachstum des Bacillus in sauren Medien wiederholt mißlang. Ob die alkalische Natur des Gefäßinhaltes einem allgemeinen physiologischen Gesetze entspricht, oder ob es sich hier um einen speziellen Fall handelt, welcher sich nur auf die Cucurbitaceen oder bloß einen Teil desselben bezieht, muß hier unentschieden bleiben. Erwiesen ist dies jedenfalls für 3 Genera, Cucumis (C. sativus L. und C. Melo L.), Cucurbita (C. Pepo L.), und Citrullus (C. vulgaris Schrad.).

Inwiefern Aufschluß über Bewegung des Wassers in der Pflanze durch die hier beschriebenen Vorgänge geliefert wird, soll bei der Beschreibung der histologischen Verhältnisse näher besprochen werden.

Die Krankheit ist im nordöstlichen Teile der Vereinigten Staaten weit verbreitet und verursacht großen Schaden, wo immer Cucurbitaceen in großem Maßstabe gezogen werden.

Die allgemeinen Symptome sind die einer an Wassermangel zu Grunde gehenden Pflanze.

31. Jan. 1895.

Referate.

Prior, E., Ueber die Umstände, welche den Vergärungsgrad des Bieres bei der Haupt- und Nachgärung bedingen. (Bayerisches Brauer-Journal. Jahrg. IV. 1894. p. 469, 493, 517, 588, 589, 601.)

— —, Ueber die Menge und Natur der bei der Vergärung von Bierwürzen vermittelst verschiedener Heferassen gebildeten Säuren. (Bayerisches Brauer-Journal. Jahrg. V. 1895. p. 49.)

Die erstgenannte Abhandlung ist einem Vortrage entnommen, welcher vom Verf. auf der 66. Versammlung deutscher Naturforscher und Aerzte in Wien gehalten wurde. Da der größte Teil desselben indessen mehr oder weniger rein chemischer Natur ist, wird nur hier der gärungsphysiologische Teil referirt werden.

Der Prozentsatz des Würzeextraktes an Zucker, sowie das Mengenverhältnis der leicht und schwer vergärbaren Zucker zu einander bildet des wesentlichste, den Vergärungsgrad des Bieres beeinflussende Moment. Nach den Untersuchungen Hansen's giebt es indessen, wie bekannt, Hefen, welche in Würze von derselben Zusammensetzung unter denselben Bedingungen einen verschiedenen Vergärungsgrad am Ende der Hauptgärung bewirken, und unterscheidet man dementsprechend nieder und hoch vergärende Hefen.

Andererseits kann ein und dieselbe Hefe in der einen Brauerei hoch, in der anderen nieder vergären, je nach der Würzezusammensetzung der verschiedenen Brauereien und den Bedingungen, unter welchen die Gärung geleitet wird. In diesem Falle ist es also dieselbe Hefe, aber eine verschiedene Würze.

Ganz anders als bei der üblichen Gärführung in der Praxis verhalten sich die verschiedenen Heferassen in einer Malzwürze von gleichem Ursprunge und gleicher Zusammensetzung, wenn sie sich unter den günstigsten Gärungsbedingungen befinden, d. h. wenn man die Gärungen bei 25° C bis zur vollständig beendeten Gärung durchführt. Derartige Versuche hat Verf. nun mit 17 verschiedenen Heferassen angestellt. 150 ccm derselben Würze wurden mit den gleichen Hefemengen geimpft und bei 25° C vergoren. Von jeder Heferasse wurde nur eine Spur ausgesät.

Diese 17 Heferassen waren folgende: Carlsberg Unterhefe No. 1 und No. 2, die Hefen Frohberg und Saaz, 6 Nürnberger Kulturhefen, die Nürnbergerhefe L, eine aus Landbier isolierte, durch ihre Vakuolen charakterisierte Hefe, Saccharomyces Pastorianus I, II und III und Sacch. ellipsoideus I und II.

Die erhaltenen Resultate ergaben, daß nach beendeter Gärung von den 17 Heferassen 15 kaum nennenswerte, in die Versuchsfehler fallende Unterschiede sowohl in den Mengen der vergorenen und nicht vergorenen Zucker, als auch im Vergärungsgrade zeigten. Von sämtlichen Hefen war der Rohrzucker vergoren. Nur die Hefe Saaz und die Nürnbergerhefe L hatte bedeutend weniger reduzierende Zucker als die anderen Hefen umgebildet. Verf. teilt hier eine Tabelle mit über die gefundenen Zahlen. Die 15 Heferassen zerspalteten reichliche Mengen Isomaltose; nur die Hefe L und Saaz vergoren unter den beschriebenen Versuchsbedingungen sehr wenig, möglicherweise gar keine Isomaltose. Unter anderen Bedingungen vermögen doch auch diese zwei Hefen erhebliche Mengen davon zu vergären.

In betreff der Hefe L hat Dr. Wiegmann einige Versuche angestellt. Es ergab sich daraus, daß diese Hefe das aus einer mit ihr selbst vergorenen Würze erhaltene Extrakt auch nach dem Verjagen des Alkohols und Zusatz von Hefewasser nicht weiter zu vergären vermag, selbst wenn hierzu aufgefrischte gärtüchtige Zellen angewendet wurden. Was also bei der ersten Gärung von der Isomaltose übrig geblieben war, konnte diese Hefe nicht weiter zerspalten.

In dem Brauereibetriebe verhalten, wie bekannt, die Kulturhefen und die wilden Hefen sich nicht gleich wie in den obenstehenden Versuchen des Verf.'s. Dieser Widerspruch ist indessen nur ein scheinbarer; die Hefen erreichen nämlich niemals in der Praxis ihren wahren Endvergärungsgrad, weil die Gärung hier bei einer niederen Temperatur geführt wird.

Verf. hat auch die Gärkraft der genannten 17 Heferassen bestimmt, und zwar nach der Methode von Meiszl. Die erreichten Resultate sind in einer Tabelle angeführt. Aus diesen Bestimmungen ergab es sich, daß die wilden Hefen im Gegensatze zu gewissen, in

der Praxis wohlbewährten Kulturhefen eine hohe Gärkraft besitzen, z. B. ist die Gärkraft von Sacch. ellipsoideus I 285,76, diejenige der Carlsberger Hefen No. 1 und No. 2 aber nur 136,4 bezw. 106,13.

In der Praxis werden diejenigen Hefen mit großem Vermehrungsvermögen dieselbe Würze höher vergären, als solche mit schwachem Vermehrungsvermögen, indem die Zellen zu ihrem Aufbau der Würze gewisse Stoffe entziehen. Verf. ist daher der Ansicht, daß sowohl die Bestimmung der Gärkraft der Hefen, als auch deren Vermehrungsvermögen die wesentlichen Faktoren sind, von welchen der Vergärungsgrad am Ende der Hauptgärung in der Praxis beeinflußt wird und abhängig ist. Daß sowohl die Menge, als auch die Art der stickstoffhaltigen Würzebestandteile sowie der sonstigen Hefenährstoffe überhaupt, auf die Gärkraft und das Vermehrungsvermögen der Hefen von Einfluß sind, ist nach Verf.'s Ansicht gewiß, ebenso wie er überzeugt ist, daß der Vergärungsgrad der Würzen nicht allein durch die Menge und das Verhältnis der vorhandenen Zuckerarten zu einander, sondern auch durch die übrigen, in der Würze enthaltenen Hefenährstoffe beeinflußt wird. Ein sehr wichtiges, den Vergärungsgrad beeinflussendes Moment, das auch für die Praxis hohe Bedeutung besitzt, ist die Lüftung und der Sauerstoffgehalt der Würzen.

Eine Erklärung der Gärungserscheinungen sucht Verf. auch zu geben: Nicht oder nur zum Teile in dem Plasma der verschiedenen Arten und Rassen sei die verschiedene chemische Leistung der Zellen zu suchen. Auch andere Faktoren spielen dabei eine Rolle. Einen solchen Faktor hat man in dem Diffusionsvermögen der Würzebestandteile zu finden geglaubt. Trotzdem ist man doch nicht in der Lage gewesen, das Verhalten der verschiedenen Heferassen unter verschiedenen Vegetationsbedingungen zu erklären, und der Grund dazu liegt dem Verf. zufolge darin, daß man sich die Zellemembran der verschiedenen Heferassen von gleicher Beschaffenheit denkt. Im Gegensatze hierzu ist Verf. der Ansicht, daß das Durchlässigkeitsvermögen der Zellemembran bei den Heferassen verschieden ist, und zwar weil die Dichte derselben eine verschiedene ist. Indem Verf. von dieser Auffassung ausgeht, erklärt er die Erscheinungen, welche während der Gärung sowohl in den Laboratorien als im Betriebe stattfinden. Er bespricht die Untersuchungen von Brown, Lintner, Hansen, Bau, E. Fischer u. A.; seine Kritik und Besprechung dieser Arbeiten hier zu erwähnen, würden uns indessen zu weit führen; wir müssen uns auf eine Hinweisung auf die Abhandlung selbst beschränken. Dieselbe wird gewiß von Jedem mit Interesse und Ausbeute gelesen werden.

In der zweiten Abhandlung teilt Verf. seine Untersuchungen über die verschiedenen Säuremengen, welche die obengenannten 17 verschiedenen Heferassen während der Gärung bilden. Die Versuche wurden alle mit derselben Würze angestellt; von dieser wurden je 250 ccm in sterile, mit Watteverschluß versehene Glaskolben gebracht und mit geringen Hefemengen geimpft. Die Gärung ging bei Zimmertemperatur vor sich bis zu vollständig beendeter Gärung.

Das Bier wurde dann filtriert und analysiert, und die erhaltenen Resultate hat Verf. in zwei Tabellen niedergelegt. Aus den genannten Untersuchungen ging Folgendes hervor: Es werden bei der Vergärung von reinen gehopften und gelüfteten Malzwürzen mit den 17 untersuchten Heferassen erhebliche Mengen flüchtiger und fixer organischer Säuren gebildet, und zwar bei den verschiedenen Heferassen verschiedene Mengen. Verf. teilt die Grenzen der Mengen dieser Säuren mit und verspricht die Versuche teils unter Ausschluß, teils unter Mitwirkung des Sauerstoffes und gleichzeitiger Verwendung verschiedener Hefemengen zu wiederholen.

Klöcker (Kopenhagen).

Loew, O. und Tsukamoto, M., Ueber die Giftwirkung des Dicyans, verglichen mit derjenigen von Cyanwasserstoff. (Forschungsberichte über Lebensmittel und ihre Beziehungen zur Hygiene, über forense Chemie und Pharmakognosie. 1894. Heft 7. p. 237—243.)

Verff. prüften die Einwirkung der beiden genannten Körper auf Fäulnisbakterien, Bierhefe, Algen, Phanerogamen und niedere Wassertiere. Es zeigte sich, daß Dicyan auf alle diese Organismen giftiger wirkt, als Cyanwasserstoff, während es sich bei Wirbeltieren gerade umgekehrt verhält. Nach Ansicht der Verff. ist der Grund für die schwächere Wirkung des Dicyans auf höhere Tiere darin zu suchen, daß letztere viel gelöstes Eiweiß in Blut und Lymphe enthalten, wodurch das Dicyan zum größten Teile gebunden werden kann, ehe es die Nervencentra erreicht.

Die Einzelheiten der Versuchsanordnung und Ergebnisse sind aus dem Originale zu ersehen. Busse (Berlin).

Beinling, E., Beobachtungen über die Blattfallkrankheit im Jahre 1894. (Wochenbl. des landw. Vereins im Großherz. Baden. 1894. No. 52.)

Der Bericht des Verf.'s erstreckt sich hauptsächlich auf die Wirkungen des falschen Meltaus, Peronospora viticola, als der Ursache der Blattfallkrankheit der Weinrebe. Zwar ist der feuchte Sommer der Ausbreitung des Pilzes ganz besonders günstig gewesen; aber an dem bedeutenden Schaden, den dieser Parasit wiederum angerichtet hat, tragen viele Rebbauern selbst die Schuld, die trotz aller Belehrungen und Warnungen die von fachmännischer Seite angeratenen Vernichtungsmaßregeln vernachlässigten. Nach des Verf.'s Ansicht ist die schlechte Qualität der letzten Weinernte ganz gewiß mit eine Folge der Pilzbeschädigungen. Infolge der üppigen Entwickelung der Peronospora viticola auf den nicht gespritzten Reben trat eine teilweise Aufhebung der assimilatorischen Thätigkeit der Blätter ein, so daß die Ernährung der Weinstöcke und die Zuckerbildung in den Beeren eine ungenügende war, bis beide Vorgänge durch vorzeitigen Blattfall ganz sistiert wurden.

Wenn ferner die Rebbauern öfter darüber klagten, daß die Besprengung der Stöcke wirkungslos geblieben wäre, so hatte dies seinen Grund darin, daß nicht der rechte Zeitpunkt zur Ausführung

der Maßregel gewählt wurde. Im letzten Sommer war die Wahl desselben allerdings durch die häufigen Regengüsse sehr erschwert. Außerdem muß früh genug gespritzt werden; denn die Besprengung soll ein Vorbeugungsmittel sein. Achtet man noch darauf, daß möglichst die ganze Pflanze von dem Bekämpfungsmittel getroffen wird, so wird der Erfolg nicht ausbleiben.

Von allen Mitteln hat sich die Kupferkalkbrühe am besten bewährt, Azurin und die Kupfersodamischung werden viel leichter vom Regen abgespült.

Schließlich ist der Verf. der Ansicht, daß auch das Auftreten der sog. „Lederbeeren" mit der Entwickelung des Pilzes zusammenhängen müsse; denn er habe in den Rebgeländen, wo die Bespritzung genau nach Vorschrift ausgeführt wurde, „Lederbeeren" nur wenig beobachtet. Bruhne (Halle).

Vuillemin, Paul et **Legrain, Emile,** Symbiose de l'Heterodera radicicola avec les plantes cultivées au Sahara. (Compt. rend. T. CXVIII. 1894. p. 549.)

Bei den meisten Gemüsepflanzen, welche Verf. zu El Oued beobachtet haben, waren die Wurzeln von Heterodera radicicola angegriffen, sowohl bei Karotten, Kohlrüben und Zwiebeln, die schon seit langer Zeit von den Einwohnern kultiviert werden, als bei Rüben, Eierpflanzen, Sellerie u. s. w., die von Frankreich eingeführt worden sind. Es ist dies um so bemerkenswerter, als bisher auf Allium, Apium und bei Solanaceen noch keine Heterodera gefunden worden ist, während man an den Wurzeln der Cruciferen nur H. Schachtii kannte.

Kohlrübe und die arabische Karotte, die gewöhnlich mit Anschwellungen der Wurzeln reichlich versehen sind, gedeihen weniger gut, als Sämlinge, welche den Angriffen des Parasiten entzogen blieben. Dagegen entwickeln sich auffallenderweise die Rüben, Eierpflanzen, Tomate und Sellerie um so besser, je mehr ihre Wurzeln von Nematodenknöllchen bedeckt sind. Bei Abwesenheit der letzteren geben diese Arten nur unansehnliche Pflanzen und gelangen nicht zur Reife.

Diese rätselhafte Erscheinung fand durch das histologische Studium der durch die Nematoden hervorgerufenen Anschwellungen eine sehr befriedigende Erklärung, indem dieselbe zu dem Resultate führte, daß es sich hier um eine echte Symbiose handle. In der Nähe der Würmer bildet sich nämlich eine gewisse Zahl von Gefäßanlagen, anstatt sich zu Röhren zu verlängern und ihre Wandung zu verholzen, zu stark gequollenen Schläuchen um. Ihre Kerne vergrößern und vermehren sich, so daß man 50 und mehr in einem einzigen Schlauche vorfindet. Das Protoplasma, reich an stickstoffhaltigen Reservestoffen und frei von Stärke, hält in den Maschen eines weiten Netzes eine große Menge Wasser zurück. Auch die stark verdickte, wesentlich aus Cellulose bestehende Wand funktioniert als Wasserreservoir; sie ist mit zahlreichen Tüpfeln versehen, durch welche die Schläuche das Wasser an die benachbarten Gefäße abgeben können. Der Vorteil einer derartigen Einrichtung in einer

Gegend, in welcher der Boden bis in eine Tiefe von 50 m gleichmäßig aus Sand besteht, ist leicht einzusehen.

Die Umwandlung der Gefäße in solche Riesenzellen mit zahlreichen Kernen findet sich in gleich bestimmter Weise bei Beta vulgaris, Apium graveolens, Solanum Melongena, Lycopersicum esculentum und ebenso auch bei Allium Cepa, obgleich sich nach C. Müller und Frank Nematoden, welche Monocotyledonen angreifen, mit Vorliebe in der Rinde lokalisieren und den Centralcylinder verschonen.

Bei Kohlrübe und Karotte bilden sich gleichfalls Riesenzellen; allein dieselben verschwinden bei diesen Pflanzen zeitig wieder infolge der schnellen Entwickelung der nicht umgebildeten Gefäße und des Parenchyms. Die Schläuche werden zerquetscht, ihr Inhalt teilt sich in zahlreiche Zellen mit dünnen Wänden und je einem Kerne. Dieses Füllgewebe stopft sich voll Stärke und verliert die Charaktere, welche es zu einem Wasserbehälter geeignet erscheinen ließen. Die dicken und collenchymatischen Wände bleiben und verholzen zum Teil. Dieser Rückgang der Riesenzellen erklärt, warum die beiden Pflanzenarten, welche an sich der Trockenheit infolge ihrer fleischigen Konsistenz besser Widerstand zu leisten vermögen, als die übrigen genannten Arten, nicht wie diese, aus der Gegenwart der Heterodera Gewinn ziehen.

Bakterienknöllchen an Leguminosen bilden sich in El Oued nicht; aber schon in geringer Entfernung von dort, wo der Boden weniger ausgedorrt ist, waren an den Wurzeln von Medicago Knöllchen zu finden. L. Hiltner (Tharand).

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Munsche, A., Beiträge zur experimentellen Prüfung der Gesetze der natürlichen Reinzucht. I. (Wochenschr. für Brauerei. 1895. No. 9. p. 189.)

Im Anschlusse an Delbrück's „Natürliche Reinzucht“ [1]) weist Verf. nach, daß es nach den daselbst aufgestellten Regeln gelingt, Kulturhefe von wilder Hefe zu trennen, bezw. die Beimischung der letzteren je nach den Versuchsbedingungen stark zu vermindern oder (selbst bis zu 100 Proz.) zu erhöhen. Zur Unterscheidung der Hefearten diente Lindner's Tröpfchenmethode. Je 1 l steriler Bierwürze wurde mit 2,5 g abgepreßter Hefe angestellt. Die Hefe enthielt 90 Gew.-Proz. Kulturhefe und 10 Gew.-Proz. wilde Hefe (beides natürlich Reinkultur) in einem Zellenverhältnisse von 81 : 19.

Zum ersten Versuche verwendete Verf. Saazer Hefe und eine leicht Sporen bildende wilde Hefe. Das Bier wurde nach 24 Stunden unter Vermeidung einer Infektion von dem meist aus toten Zellen

1) Wochenschrift für Brauerei. 1895. p. 67.

bestehenden Bodensatze abgegossen, nach drei Tagen wieder vom Bodensatze getrennt und letzterer (I a) sowie das gärende Bier (I b) in folgender Weise verarbeitet. Den Satz (I a) stellte man mit frischer Würze an und züchtete die nach 3, 4, 5 und 9 Tagen gebildeten Satzhefen weiter. Nach 6maliger Führung enthielt die Bodensatzhefe auf 500 Zellen nur eine wilde, also nur 0,2 Proz. Das gärende Bier (I b) wurde nach 3 Tagen abgegossen, mit frischer Würze vermischt und in gleicher Weise in Zwischenräumen von 4, 5, 9 und 9 Tagen behandelt. Nach 6maliger Weiterführung bestand der zum Schlusse gebildete Satz nur aus wilder Hefe.

Bei genau derselben prozentualischen Mischung von Frohberg — Hefe mit einer anderen wilden Hefe und ähnlicher Durchführung des Verfahrens ergab sich bei einer Gärtemperatur von 10—12° R, daß durch stete Verwendung der Bodensätze zu neuen Gärungen die wilde Hefe in diesen schließlich ganz verschwand, während die mit dem gärenden abgegossenen Biere ständig fortgeführten Gärungen zum Schlusse nur wilde Hefe enthielten. Bei einem wiederholten Versuche enthielt die Bodensatzhefe schließlich nur 0,9 Proz. wilde Hefe.

Bei niederen Gärungstemperaturen, zwischen 3 und 5° R, gelang die Trennung der Kulturhefe von wilder Hefe nicht, im Gegenteil reicherte sich die letztere in den Bodensätzen an und stieg in einem Falle sogar bis auf 59,6 Proz.

Verf. schließt daraus, daß in dem Konkurrenzkampfe die niederen Temperaturen hemmend auf die Kulturhefe wirken, so daß die wilde Hefe die Oberhand gewinnt.

Daß die wilden Hefen gerade bei der Lagerung des Bieres (in kalter Temperatur) zur Entwickelung gelangen, war zwar bekannt, bisher aber noch nicht experimentell bewiesen. Verf. weist aus gleichen Gründen darauf hin, daß die bei der Untersuchung von Hefen auf Verunreinigungen durch Spuren wilder Hefe übliche Auffrischung bei 25° C leicht zu falschen Resultaten führen könnte, da bei dieser hohen Temperatur die Kulturhefe die wilde unterdrückt, und wirft deshalb die Frage auf, ob nicht eine niedere Temperatur für diesen Zweck praktischer wäre.

Zum Schlusse erwähnt Verf., daß ihm eine Trennung der Hefe Saaz und Frohberg nach den Gesetzen der natürlichen Reinzucht bisher nicht gelungen sei, nnd stellt hierüber spätere Mitteilungen in Aussicht. Bau (Bremen).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

DR. WILHELM WINDISCH.

Allgemeines über Bakterien und andere Mikroorganismen.

Abbot, A. C., The principles of bacteriology A practical manual. 2. ed. 8°. 482 p. Philadelphia (Lea Brothers & Co.) 1894.

Behrens, J., Der Ursprung des Trimethylamins im Hopfen und die Selbsterhitzung desselben. gr. 8°. Karlsruhe (Otto Nemnich) 1895. 0,80 M.

Buckmaster, George A., Ursprung und Beschaffenheit gewisser Bakteriengifte. (Biologisches Centralblatt. Bd. XV. 1895. No. 3. p. 96.)

Caron, A., Landwirtschaftlich-bakteriologische Probleme. (Die landwirtschaftlichen Versuchsstationen. Bd. XLV. 1895. Heft 5 und 6. p. 401.)

Deycke, G., Die Benutzung von Alkalialbuminaten zur Herstellung von Nährböden. (Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde. Erste Abteilung. Bd. XVII. 1895. No. 7/8. p. 241—245.)

Frankland, Percy and **Mrs. Percy,** Microorganisms: their signifiance, identification and removal: with an account of the bacteriological methods employed in their investigation; specially designed for the use of those connected with the sanitary aspects of water supply 8°. 16 u. 532 p. New York (Longmans, Green & Co.) 1894.

Fränkel, C. und **Pfeiffer, R.,** Mikrophotographischer Atlas der Bakterienkunde. 2. Auflage. 13.—15. (Schluß-)Lieferung. gr. 8°. 15 Lichtdrucktafeln m. 15 Blatt Erklär. u. 16 p. Text. Berlin (August Hirschfeld) 1895. à 4 M.

Gerstner, Richard, Beiträge zur Kenntnis obligat anaërober Bakterienarten. (Arbeiten aus dem bakteriologischen Institute der technischen Hochschule zu Karlsruhe. Bd. I. 1895. Heft 2. p. 151—183. Mit 2 Tafeln.)

Hest, J. J. van, Bakterienluftfilter und Bakterienluftfilterverschluß Jena (Gustar Fischer) 1895.

Jaspers, G., Beitrag zur Impfung der Leguminosen. (Deutsche Landwirtschaftl. Presse. Jahrg XXII. 1895. No. 28. p. 269.)

Kanthack, A. A. and **Drysdale, J. H.,** A course of elementary practical bacteriology, including bacteriological analysis and chemistry. 8°. 204 pp London (Macmillan) 1895. 4 sh. 6 d.

Migula, W., Ueber ein neues System der Bakterien. gr. 8°. Karlsruhe (O. Nemnich) 1895. 0,50 M.

Schneider, P., Die Bedeutung der Bakterienfarbstoffe für die Unterscheidung der Arten. gr. 8°. Karlsruhe (O. Nemnich) 1895. 2 M.

Siebel, F. P., Formaline. (The Western Brewer. Vol. XX. 1895. No. 3. p. 570.)

Pastor, R., El microbio como elemento funtamental del Cosmos en sus relaciones con el hombre. (Crón. méd. 1894. p. 37, 105, 169, 262, 366, 417.)

Vuillemin, Paul, Sur la structure et les affinitées des Microsporon. (Comptes rendus hebdomadaires des séances de l'Académie des sciences. Tome CXX. 1895. No. 10. p. 570.

Waldo, F. J. and **Walsh, D.,** Bread backhouses and bacteria. 8°. London (Bailliere) 1895. 2 sh.

Wilfahrt, H., Die Rolle der Bakterien in der Landwirtschaft. (Zeitschrift des landwirtschaftlichen Centralvereins der Provinz Sachsen. Jahrg. 1894. p. 282.)

Systematik, Morphologie und Biologie der Bakterien und anderer Mikroorganismen.

Haan, J. de, Bacterie-toxinen en antitoxinen. 8°. 26 p. Haarlem (Bohn) 1894.

Klein, E., The relation of bacteria and their toxines. (Lancet. 1895. Vol. I. p. 26—27.)

Loofs, A., Ueber den Bau von Distomum heterophyes v. Sieb. und Distomum fraternum n. sp. gr. 8°. 59 p. m. 2 Taf. Cassel (Th. G. Fischer & Co.) 1895. 12 M.

Sommaruga, E. v., Ueber Stoffwechselprodukte von Mikroorganismen. (Zeitschrift für Hygiene. Bd. XVIII. 1895. Heft 3. p. 441—456.)

Allgemeine Gärungsphysiologie.

Boas, J., Bemerkungen zur diagnostischen Bedeutung und zum Nachweise der Gärungsmilchsäure im Mageninhalte. (Berl. klin. Wochenschrift. Bd. XXXII. 1895. p. 189.)
Brown, Horace T., The theories of fermentation. (The Western Brewer. Vol. XX. 1895. No. 3. p. 568.)
Fernbach, Levure et oxygène. Le pouvoir ferment chez la levure. (Journal de la Distillerie française. Année XII. No. 565. p. 155.)
Gréaume, A., Notes sur le cidre: propriétés, ferments, maladies, conservation en fûts par l'emploi du gazogène carbonique. 8°. 32 pp. Avec fig. Rouen (impr. Gy) 1894.
Munsche, A., Beiträge zur experimentellen Prüfung der Gesetze der natürlichen Reinzucht. (Wochenschrift für Brauerei. Jahrg. XII. 1895. No. 9. p. 189.)

Molkerei.

Frey, A. A., Die Milchwirtschaft der Klein- und Mittelbauern nebst Hauskäserei. 2. Aufl. gr. 8°. (VI, 89 p. mit Abbild.) Bern (K. J. Wyss) 1895. 1,20 M.
Rodet, A., Sur la sterilisation du lait (Rev. d'hygiène. 1894. No. 12. p. 1025—1050.)
— —, De la sterilisation du lait. (Lyon. méd. 1894. No. 51, 52. p. 563—575, 597—605. 1895. No. 1, 2. p. 12—18, 46—49.)
Spalikowski, Edmond, Contribution à l'étude bactériologique du lait. 8°. 8 pp. Rouen (impr. de l'Ami des sciences naturelles) 1894.
Weigmann, H., Bericht über die Fortschritte auf dem Gebiete der Milchbakteriologie und Milchhygiene. (Forschungsberichte über Lebensmittel. Bd. I. p. 533—539.)

Brauerei.

Bauer, Abgeänderter Sterilisator. (Zeitschrift für das gesamte Brauwesen. Neue Folge Jahrg. XVIII. 1895. No. 11. p. 85.)
Brown, Horace T. und **Morris, G. Harris**, On a Case of Bacterial infection by airsown organisms: A practical study. (Journal of the Federated Institutes of Brewing. Vol. I. p. 15—21.)

Weinbereitung.

Neſsler, J., Das Trübbleiben junger Weine uud das Schönen und Filtrieren derselben. Vortrag, gehalten beim Weinbaukongresse in Mainz am 2. September 1894. (Weinlaube. Jahrg. XXVII. 1895. No. 10. p. 110.)

Düngung.

Märcker, M., Zum jetzigen Stande der Stalldüngerfrage. Vortrag, gehalten auf der Generalversammlung des Magdeburger Vereins für Landwirtschaft und landwirtschaftliches Maschinenwesen am 24. März 1895. (Durch Deutsche Landwirtschaftszeitung. Jahrg. XXXIX. 1895. No. 25. p. 208.)
Vanderyst, Hyacinthe, La question de l'humus. Extract du Bulletin de l'agriculture. 1895. 8°. 29 pp. Bruxelles (P. Weissenbruch) 1895. 1 fr.
Wohltmann, F., Die Bakterien im Stallmiste und Erdboden und der Streit Kühn gegen Wagner. (Der Landwirt. Jahrg. XXXI. 1895. No. 25. p. 145.)

Wasser.

Czernolossow, Reinigung des Wassers durch Alaun und nach der Methode von Sembizki. Dissertation St. Petersburg 1894. (Wratsch 1894. p. 630.)
Marpmann, G., Beitrag zur bakteriologischen Wasseruntersuchung. (Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde. Erste Abteilung. Bd. XVII. 1895. No. 11. p. 362.)
— —, Die bakteriologische Wasseruntersuchung. (Apothekerztg. 1895. p. 126.)
Seegrön, Ed., Chemisch-bakteriologische Brunnenwasseruntersuchungen im 1. Stadtteile (Techelforscher Bezirk) zu Jurjew (Dorpat). Inauguraldiss. Jurjew (Dorpat) 1894 8°. 92 pp.
Zimmermann, Theod., Chemische und bakteriologische Untersuchungen einiger Brunnenwässer Jurjews (Dorpat). 8°. 67 pp. Inauguraldiss. Jurjew (Dorpat) 1894.

Boden.

Vrieze, K. de, Kann man mittels Lehm Leguminosepilze einimpfen. Erwiderung auf Dr. Saalfeld's gleichlautenden Artikel in No. 100 des Jahrg. 1894 der Deutschen Landwirtschaftlichen Presse. (Deutsche Landwirtschaftliche Presse. Jahrg. XXII. 1895. No. 26. p. 241.)

Durch Parasiten verursachte Krankheiten der Pflanzen.

Aderhold, Rud., Notizen über einige im vorigen Sommer beobachtete Pflanzenkrankheiten. (Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten. Bd. V. 1895. p. 8—10.)

Ballé, Emile, Mycocécidies observées aux environs de Vire. Extr. du Monde des plantes. 1895. 8°. 4 pp. Le Mans (impr. Monnoyer) 1895.

Briem, H., Geschichtliche Entwickelung der Ansichten über die Entstehung des Wurzelbrandes. (Oesterreichisch-Ungarische Zeitschrift für Zuckerindustrie und Landwirtschaft. Jahrg. XXIV. 1895. Heft 1. p. 1.)

Cavara, Fr. e **Poli, A.,** Calendario delle irrorazioni per proteggere le piante coltivate dalle crittogame et dagli insetti parassiti. (Almanacco del giornale L'Italia agricole per l'anno 1895.)

Clendenin, Ida., Synchytrium on Geranium carolinianum. c. tab. (The Botan. Gaz. 1895. p. 29.)

Daille, L., Observations relatives à une Note de M. M. Prillieux et Delacroix, sur la gommose bacillaire des Vignes. (Comptes rendus des séances de l'Académie des sciences. T. CXIX. 1895. No. 18.)

Decaux et **Fortier, E.,** La Cheimatobia brumata (Duponchel); ses invasions en France; appareil supprimant tous dégâts. Suivi de: Destruction des hametons et de leurs larves par le „Botrytis tenella", par E. Fortier. Extr. du Journal d'agriculture pratique 1894. No. 32. 8°. 38 pp. Avec figures. Rouen (impr. Deshays & Co.) 1895.

Dubor, G. de, Viticulture moderne (Aspèces et variétés de la vigne, culture, maladies etc.). 8°. 150 pp. Avec 100 grav. Paris (Larousse) 1894.

Ellis, G. B. and **Everhart, B. M.,** New species of Ustilagineae and Uredineae. (Bulletin of the Torrey Botanical Club. Vol. XXII. 1895. p. 57—61.)

Frank, B., Ueber die in Deutschland neu aufgetretenen Getreidepilze der Abteilung der Pyrenomyceten. (Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten. Bd. V. 1895. p. 10—12.)

— —, Neue Untersuchungen über Phoma Betae. I. Teil. (Zeitschrift des Vereins für die Rübenzuckerindustrie des Deutschen Reiches. 470. Lieferung. März 1895. p. 157.)

Frank, B., Berichtigung betr. Phoma betae. (Der Landwirt. Jahrg. XXXI. 1895. No. 26. p. 151.)

Frank und **Sorauer,** Fünfter Jahresbericht des Sonderausschusses für Pflanzenschutz 1893. (Arbeiten der Deutschen Landwirtschaftl. Gesellschaft. Herausgegeben vom Direktorium. Bd. VIII. 1895. Heft 5. 8°. 101 pp.) Berlin (P. Parey) 1895. 2,50 M.

Hennings, P., Fungi goyazenses. (Hedwigia. Bd. XXXIV. 1895. Heft 2. p. 88.)

— —, Ustilago Ficuum Reich. = Sterigmatocystis Ficuum (Reich.) P. Hen. (Hedwigia. Bd. XXXIV. 1895. Heft 2. p. 86.)

Henschel, Gust. A. O., Die schädlichen Forst- und Obstbauminsekten, ihre Lebensweise und Bekämpfung. Praktisches Handbuch für Forstwirte u. Gärtner. Dritte Auflage. Bd. XII. gr. 8°. 758 pp. mit 197 Abbildgn. Berlin 1895. geb. 7,44 fl.

Hefs, W., Die Kartoffelkrankheit und ihre Bekämpfung. (Der Landbote. Jahrg. XVI. 1895. No. 26. p. 245.)

Hollrung, M., Ueber die im Jahre 1894 an der Zuckerrübe beobachteten Krankheitserscheinungen. Mit Abbildungen. (Zeitschrift des Vereins für die Rübenzuckerindustrie des Deutschen Reichs. 470. Lieferung. März 1895. p. 189.)

Janeba, Ueber Wurzelbrand der Rüben. (Deutsche Landwirtschaftl. Presse. Jahrg. XXII. 1895. No. 28. p. 269.)

Kiehl, A. F., Erwiderung auf die Berichtigung des Herrn Professors Frank über Phoma betae. (Der Landwirt. Jahrg. XXXI. 1891. No. 27. p. 157.)

Klebahn, H., Kulturversuche mit heteröcischen Rostpilzen. III. Bericht. (Zeitschrift f. Pflanzenkrankheiten. Bd. V. 1895. p. 13—18.)

Ludwig, F., Ueber das Vorkommen von Bulgaria polymorpha (Ad.) an lebenden Eichen (Quercus rubra). (Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten. Bd. V. 1895. Heft I. p. 12.

— —, Peziza vesiculosa Bull., ein Schädling der Gärtnereien (l. c.).

Luizet, G., Nouveau procédé de destruction du phyloxera. (Vigne améric. 1894. No. 9. p. 264—266.)
Magnus, P., Zur Epheukrankheit. (Gartenflora. 1895. p. 21, 41.)
Marauschek, Franz, Zur Bekämpfung der Blutlaus des Apfelbaumes. (Landwirtschaftl. Mitteilungen für Steiermark. 1895. No. 1. p. 9.)
Peglion, V., Diagnosi di Funghi parassiti nuovi. (Riv. di Path. veget. T. III. 1895. No. 1—4.)
Sajo, Karl, Auszug aus den landwirtschaftlich-entomologischen Arbeiten der Vereinigten Staaten Nordamerikas in den Jahren 1892 und 1893. (Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten. Bd. V. 1895. p. 28—32.)
— —, Die Nahrungspflanzen der Insektenschädlinge (l. c. p. 20—22.)
Sargent, C. S., A monstrous form of the Black Spruce. (The Garden and Forest. Vol. VIII. 1895. p. 44. With 1 fig.)
Schlechtendal, D. von, Beobachtungen über das Bräunen der Blätter unserer Laubhölzer durch freilebende Phyllocoptinen (Gallmilben). (Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten. Bd. V. 1895. p. 1—7. Mit 1 Tafel.)
Schöyen, W. M., Petrolmischungen etc. gegen Raupen (l. c. p. 7—8.)
Shirai, Mitsutaro, Galls of Rhus semi-alata var. Osbeckii. (The Botanical Magazine. Vol. IX. Tokyo 1895. p. 1.)
Smith, E. F., Field Notes 1892. c. tab. (The Journal of Mycologie. Bd. III. 1894. Heft 4. p. 373.)
Solla, Rückschau über die auf phytopathologischem Gebiete während der Jahre 1893 und 1894 in Italien entwickelte Thätigkeit. Fortsetzung. (l. c. p. 22—27.)
Sorauer, Paul, Ueber die Wurzelbräune der Cyclamen. (l. c. p. 18—20.)
Spiegler, Anleitung zur Bekämpfung der Rübennematode. Zweite Auflage der im Jahre 1893 erschienenen Schrift, erweitert durch Anführung der günstigen Resultate, welche auf 100 ha erzielt wurden, samt den einschlägigen ausführlichen Kostenberechnungen. kl. 8°. 52 pp. Wien 1895. —,80 fl.
— —, Praktische Anleitung zur Bekämpfung der Rübennematode Heterodera Schachtii. 2. Aufl. 8°. 52 pp. Wien (Wilh. Frick) 1895. 1,60 M.
Spiegler, J., Praktische Anleitung zur Bekämpfung der Rübennematode Heterodera Schachtii. 2. Auflage. gr. 8°. Wien (Wilhelm Frick) 1895. 1,60 M.
Strohmer, Friedrich, Ueber den gegenwärtigen Stand der Nematodenkrankheit der Zuckerrübe in Oesterreich-Ungarn. Gutachten für das hohe k. k. Ackerbauministerium. (Sep.-Abdruck aus Mitteilungen der chemisch-technischen Versuchsstation für Rübenzuckerindustrie in der österreichisch-ungarischen Monarchie. Bd. LVII. 1895. 8°. 15 pp.)
Van Bambeke, Ch., Note sur une forme monstrueuse de Ganoderma lucidum Leys. (Overgedrukt uit het Botanisch Jaarboek Dodonaea. Jaargang VII. 1895. p. 94—116.) 8°. 13 pp. Avec 2 pl. Gand (libr. J. Vuylsteke) 1895.
Vertilgung von Pflanzenschädigern durch Pilzinfektion. (Mitteil. aus der landwirtschaftl. Versuchsstation in Graz. (Durch Deutsche Landwirtschaftsztg. Jahrg. XXXIV. 1895. No. 23. p. 191.)
Vuillemin, P. Sur une maladie mycobactérienne du Tricholoma terreum. (Compt. rendus des séances de l'Académie des sciences. T. CXIX. 1894. No. 19.)
Webber, H. J., Preliminary notices of a fungous parasite du Aleyrodes Citri R. et H. (The Journal of Mycology. Bd. VII. 1895. Heft 4. p. 363.)
Wegelin, H., Beitrag zur Pyrenomycetenflora der Schweiz. c. tab. 2. (Mitteil. d. Thurgauischen Naturf. Ges. Heft 11. 1894. p. 1.)
Wingelmüller, Karl, Pentophora rorio L. (Oesterr. Landwirtschaftliches Wochenblatt. Jahrg. XXI. 1895. No. 6. p. 43.)

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Hessert, W., A simple stain for ciliated bacteria. (Chicago med. Recorder. 1894. p. 240—242.)
Ilkewitsch, Konstantin, Ein neuer beweglicher Objekttisch. (Centralbl. f. Bakt. u. Paras. Erste Abteil. Bd. XVII. 1895. No. 12. p. 411.)

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien.

Defries, W., On the theory and practice of disinfection by heat. (Journ. of the sanit. institute. Vol. XV. 1895. part. IV. p. 528—532.)

Dureau, G., La destruction des nématodes par le Procéde Willot. (Journal des fabricants de sucre. 1894. No. 35.)
Ermengen, E. van et Sugg, E., Résumé des recherches sur la valeur de la formaline à titre des désinfectant. (Presse méd. belge. 1895. No. 4. p. 25—26.)
Fairchild, D. G., Experiments with Fungicides to prevent Leaf-Blight of Nursery-Stock. (The Journ. of Mycology. Bd. VII. 1894. Heft 4. p. 338.)
— —, Bordeaux Mixture as a Fungicide. (U. S. Dep. of Agricult., Dir. of veget. pathol. Bull. No. 6. 1894.)
Galloway, B., A new method of treating grain by the Jensen process for the prevention of Smut. (Journal of Mycology. Bd. VII. 1895. Heft 4. p. 372.)
Hollrung, M., Bericht über die Thätigkeit der Versuchsstation für Nematodenvertilgung und Pflanzenschutz im Jahre 1894. (Zeitschrift des Vereins für die Rübenzuckerindustrie des Deutschen Reiches. 470. Lieferung. März 1895. p. 155.)
Jolles, M., Weitere Untersuchungen über die Desinfektionsfähigkeit in Seifenlösungen. (Zeitschrift f. Hygiene. Bd. XIX. 1895. Heft 1. p. 130—138.)
Pierce, N. P., Prune Rust. c. tab. (The Journ. of Mycology. Bd. VII. 1894. Heft 4. p. 344.)
Roger, H., Action des hautes pressions sur quelques Bacteries. (Comptes rendus des séances de l'Académie des sciences. T. CXIX. 1894. No. 23.)
Swingle, W. T., An improved method of making Bordeaux Mixture. (The Journal of Mycol. Bd. VII. 1894. Heft 4. p. 360.)
Vanderlinden et de Buck, Recherches bactériologique sur la valeur de la formaline considerée comme antiseptique. (Arch. de med. expérim. 1895. No. 1. p. 76—86.)
Vincent, H., Sur la desinfection des matières fécales normales et pathologiques. Etude de la valeur comparée des divers désinfectants chimiques actuels. (Annales de l'Institut Pasteur. 1895. No. 1. p. 1—39.)
Waite, M. B., Treatment of Pear Leaf-Blight in the Orchard. c. tab. 2. (The Journal of Mycology. Bd. VII. 1894. Heft 4. p. 333.)

Inhalt.

Originalmitteilungen.

Referate.

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

1895. Centralblatt Bd. I. No. 9/10.
für Bakteriologie und Parasitenkunde.
II. Abteilung.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie und Parasitenkunde.

Zweite Abteilung:

Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie und Pflanzenpathologie.

In Verbindung mit
Prof. Dr. **Adametz** in Krakau, Dr. W. M. **Beyerinck** in Delft,
Prof. Dr. **A. B. Frank** in Berlin, Dr. **v. Freudenreich** in Bern, Prof. Dr. **Emil Chr. Hansen** in Kopenhagen, Dr. **Lindner** in Berlin, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Prof. Dr. **Stutzer** in Bonn, Privatdocent Dr. **Wehmer** in Hannover, Dr. **Weigmann** in Kiel, Dr. **Wilfarth** in Bernburg und Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg

herausgegeben von

Dr. O. Uhlworm in Cassel.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

I. Band. Jena, den 15. Mai 1895. **No. 11.**

Preis für den Band (26 Nummern) 16 Mark.

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde" richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige ***Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.***

Original-Mittheilungen.

Cream Ripening with Bacillus No. 41.

By

H. W. Conn,

Wesleyan University, Middletown, Ct.]

For several years bacteriologists have been searching for proper species of bacteria to use satisfactorily in cream ripening. Several such species have been found and are in use to some extent in various places. In the work that has been carried on hitherto the search has been made almost wholly for acid producing organisms.

It is, of course, a well known fact that the normal "ripening" of cream has been accompanied by the production of lactic acid. In most localities the process is called the "souring" of cream. For this reason it is a natural assumption that the proper species of bacteria to produce an acid ripening would be found among the lactic producing organisms. Several years ago I advanced the suggestion that it was not unlikely that the aroma of the butter was something entirely distinct from the souring, and that quite probably it would be found that the aroma was produced by organisms which did not produce the normal lactic acid, possibly in organisms that produced decomposition products of the proteid substances of the cream. At the same time, inasmuch as the ripening process is so universally regarded as a process of souring, it has been natural that bacteriologists in searching after pure cultures for the purpose, should confine themselves almost wholly to lactic organisms. It is well known that as a result of these various experiments several species of bacteria have been isolated and cultivated and used; but while some produce desirable effects in the cream and butter, still, it has been impossible to obtain any one species which produces the typical flavor. It has been assumed that the proper flavor of butter could not be obtained by the use of any single organism in ripening the cream.

Experiments have been carried on in my laboratory for several years upon the subject of cream ripening, part of the results of which have been already published[1]). These experiments were directed not to the study of lactic acid organisms alone, but also to the class of bacteria that produced other changes in milk, such as the proteid decomposition, the rennet and tryptic formation, etc. As was to be expected it has been found that a majority of the species of bacteria do not produce a desirable effect upon the butter; some of them produce a decidedly injurious effect while others produce an effect which is practically negative. There has, however, been found one species of organism which has produced such remarkable results in the matter of butter making, as to deserve to stand unique by itself. This organism was obtained from a sample of milk which had been sent from Uruguay S. A. to the Columbian Exhibition, a sample of milk which had not been properly preserved or properly sealed and had consequently become contaminated with bacteria. In the milk were found several species of organisms, the most abundant of which was one which was called at the time of its isolation Bacillus No. 41. This name has become somewhat widely known in this country as associated with this particular organism and it is, therefore, deemed wise simply to retain the name Bacillus No. 41, instead of giving it any new title. This organism has produced such remarkable results in its effect upon butter, that a somewhat extended description of it and its influence is here given. The bacteriological description of the organism is as follows:

1) Annual Report of Storrs Experiment Station. 1893.

Bacillus No. 41. Conn.

Locality. A sample of "preserved" milk from Uruguay, South America.

Morphology. A bacillus seen in pairs but never in chains. Size is 1,1 μ by 0,7 μ, or when growing on potato a little larger. There are no spores.

Motility. None.

Temperature. Grows best at about 23°. Will also grow less readily in culture oven.

Relation to oxygen. Will not grow under mica plate.

Gelatine plate. It produces a smooth, round, raised bead colony, which spreads somewhat. The size may reach 1 mm and the color is white. The colony is not characteristic.

Gelatine stab. There is only a slight needle growth. Surface growth is not very thick at first, but after several days may spread and thicken into a white mound.

Agar-Agar. A whitish, smooth, moist, glistening growth, which is very abundant.

Potato. There is produced a thick, white or whitish yellow layer which grows rapidly. The color varies from white to a brown with different potatoes. The growth on potato seems to be more rapid than in any other medium.

Bouillon. Liquid becomes quite cloudy and a heavy scum forms which does not sink on being disturbed. After five days a sediment begins to collect and there is no further change. When 3 % milk sugar is added to the bouillon the growth is not so abundant.

Milk. There is no visible effect upon the milk for a long time. In the first two or three days there is a very slight acidity developed, but the milk does not curdle or undergo further change. There is developed in unsterilized milk a prominent, pleasant aromatic odor. After a week or more the odor changes to that of a fine cheese, and in older cultures the cheese odor is very strong. After several weeks the milk becomes slightly brownish and translucent.

As will be seen No. 41 is not to be regarded as one of the milk souring organisms, for while under its influence the milk does become very slightly acid as indicated by its action upon litmus, still the acidity is very slight. Under no circumstances is there produced a curdling from the acid, not even when the milk is heated, and the taste of the milk is hardly in the slightest degree sour. It will be seen, furthermore, that the effect of the organism upon milk is slight although there are indications of certain decompositions taking place. A pleasant, aromatic flavor appears which becomes cheesy in old cultures.

Preliminary laboratory experiments seem to indicate that Bacillus No. 41 had a favorable effect upon the butter when used in ripening the cream, and as a result the experiments were transferred from the laboratory to a neighboring creamery. In this creamery the experiments were first undertaken in accordance with the ordi-

nary method that has been used, and the cream to be ripened was first heated to a temperature of about 69° for ten minutes, and was then cooled and inoculated with a large culture of Bacillus No. 41. It was then ripened as usual and churned. After a few experiments it was found that more favorable results could be obtained without the use of the previous pasteurization, and consequently the method of experimenting was changed to the following simple process. A milk culture, about a quarter of a liter, two days old was sent to the creamery. At the creamery a small lot of cream, about 6 liters, was pasteurized and mixed with the milk culture of Bacillus No. 41. This cream was allowed to stand for two days growth to allow the organisms to become more numerous and was then poured directly into the cream of the day's gathering. The cream was allowed to ripen in the normal fashion, and just before churning some six or eight liters of the cream were set aside to be inoculated into the next day's cream as a starter. This process of inoculating one day's cream from that of the previous day was continued day after day until it was found that the influence of the original culture was exhausted, when a new culture was inoculated into the cream in the same manner. This method of experimentation has been continued for nearly a year and a half with absolutely uniform results.

The influence of No. 41 on the butter made from the cream is as follows. Butter that is made from the first lot of inoculated cream shows perhaps a slight superiority to the butter made without the inoculation. The second day's butter is better still, and then the character of the butter improves day by day for a week or more when the effect of the culture is at its maximum. Sometimes, however, the improvement continues for three to four weeks. After that the value of the culture continues for a period of one, two, three or four weeks according to various conditions, but then begins slowly to deteriorate until the cream gets back to its normal condition. A new culture added, however, brings back the butter at once to its high quality. This process has been repeated over and over again during the period of experiments and the result has been uniform in every case. In each instance where the cream was inoculated with the fresh culture the butter improved markedly in character and the improvement continued from three to six weeks, when a noticeable deterioration occurred. A new culture then added to the cream at once brought the quality of the butter back again, and this process was repeated over and over again with such uniformity as to lead to the conclusion that the effect would be universal.

The influence upon butter is quite striking. There is no especial effect produced upon the grain of the butter, but the flavor begins at once to improve, and when the effect of the culture is at its maximum the butter is furnished, even in the winter months, with that peculiar, penetrating, delicious flavor and odor which is normally characteristic of the highest quality of June butter. By butter experts it has been stated that this inoculated butter contains the

desired "grass flavor" that dairymen hardly expect except during the summer months. It is this aroma which becomes greater from day to day as the effect of the culture increases, and which later disappears as the culture becomes exhausted and reappears again when a new fresh culture is used.

After having experimented in this way in a single creamery for a year the experiments were extended to others. Up to the present time the organism has been, and is still, being used in over one hundred creameries and in several private dairies with uniform results everywhere. The butter makers have uniformly been surprised at the striking improvement that has occurred in butter. In many cases the butter has been rated by experts with as severe a test as possible. The ordinary method of doing this is as follows. A lot of cream is divided into two parts, one is ripened and churned in the normal fashion, and the other is inoculated with a culture of the Bacillus No. 41, but in other respects treated identically the same. There is in these experiments no heating of the cream, and indeed no difference between the treatment of the two lots except that the one lot was inoculated with a culture of No. 41 and the other was not thus provided. The cream was ripened the same length of time and churned under the same conditions. Butter was treated in the same way and samples of each lot were sent to experts who had no knowledge whatever of the experiments. In every case the inoculated butter graded higher in the different experiments that have been tested. This rating has not been confined to any single creamery. The creameries from several distant parts of the country, separated from each other by at least a thousand miles have been inoculated in the same way, and treated in the same fashion, and the butter made has been submitted to local experts, who in no case understood in the slightest degree the significance of the experiments, and indeed in most cases did not even know that experiments were being carried on. There have been no exceptions to the rule that the butter made by the inoculated cream was rated several points higher than the uninoculated butter, and in every case the inoculated butter was regarded as remarkably superior butter for the season of the year in which it was made. One expert stated of butter made thus in February that it was the finest he ever tested. Several times the experts declared that the butter contained the desirable „June flavor“ of first class butter. In the experiments in private creameries the results have been equally satisfactory, for in each case where the culture has been used there has been noticed a decided improvement in the flavor of the butter.

One especially striking experiment in this connection was during the month of June, the period when the best quality of butter is ordinarily made. A large lot of first class June cream was divided into two portions, one inoculated and the other not, and both ripened and churned under the same conditions. Both produced a very high quality of butter, but that produced by the inoculated cream was very markedly superior. The moment the wrapper was taken off of the samples of butter from this cream, the strong, delicious, penetrating odor of high quality butter was perceived at once even without

tasting, while butter that was made from the uninoculated cream, even though of high quality, lacked this strongly penetrating odor.

Up to the present time the use of this culture has been largely in the higher class of creameries and dairies, in those, in fact, that produced the very highest grade of butter. It was thought that this would be the best test of the value of the culture, because if the quality of the best butter could be improved by the culture it was pretty certain that the Bacillus No. 41 did produce the desired aroma. In some cases the creameries that used the culture made butter that sold for 60 to 80 cents a pound in market, and in all these cases, as already stated, a decided improvement in the flavor of the butter has been noted. In several instances it has been found that the culture has removed certain undesirable peculiarities in the butter. During the month of December of the present year some of these first glass creameries were troubled with a peculiar flavor which was said to be caused by a certain plant known as „frost weed" in the cow's food. The inoculation of the cream with a culture of Bacillus No. 41, to their surprise, and certainly to mine, has removed entirely the injurious effect produced by this food plant. In another case troublesome curds have been gotten rid of by the use of the culture.

The experiments have thus been carried on now for over a year, and with absolutely uniform results, in creameries separated from each other by hundreds of miles, conducted under all sorts of conditions, upon butter that has been tested by experts from various localities. It can hardly be questioned that Bacillus No. 41 produces a flavor in the butter that is especially unique. This result has been surprising inasmuch as the organism is not an acid organism and is not, therefore, of the class of organisms that have been hitherto searched after and used in cream ripening, for it does not sour the cream.

Perhaps the most surprising and valuable result was the use of the culture without any previous treatment of the cream. In all experiments with artificial inoculation up to this time, it has been found necessary or desirable to first destroy the bacteria in the cream by heat before inoculating it with the artificial culture. This is certainly a troublesome matter. With Bacillus No. 41 the previous heating does not appear necessary or even desirable. Butter made from unpasteurized cream is the best. This method was devised by practical experience and the explanation of the method appears to me to be as follows. In normal cream ripening there is no doubt that is the cream should be soured by lactic acid, for the desired butter flavor is always slightly sour. At the same time butter that is simply soured is not first glass butter. Now ordinary cream at any season of the year may be depended upon to contain lactic acid organisms and if ripened as it ordinarily is without inoculation the cream will become sour; but the cream cannot be depended upon to contain proper aroma producing species. In the method of inoculation as adopted in my experiments, the ordinary bacteria which are present in the cream are depended upon to produce the lactic

acid, and to give rise to the slight sour flavor that is desired in the butter. But the inoculated culture of Bacillus No. 41 gives in addition the desired aroma. This will readily enable us to understand why the organism will produce good results in good cream, but will hardly explain how it can produce good results in cream already containing organisms which would of themselves injure the butter. Many of my tests have, however, been made with rather poor cream and cream which contains injurious organisms. Even in these cases, however, the organism has produced good results. There are reasons for believing that Bacillus No. 41 actually destroys many of these injurious organisms which chance to be in the cream. Laboratory experiments have shown that when Bacillus No. 41 is inoculated into milk with certain other species of bacteria, the other species disappear in a day or two, leaving the Bacillus No. 41 alone. These experiments are not yet complete.

Whether an equally pure aroma can be found associated with other species of bacteria or not cannot at present be stated. This species produces the best results of any of the many species thus far experimented with. Experiments in this line are still going on in my laboratory, and it is expected that before long it will be possible to state somewhat accurately the exact effect produced upon the butter of all the different species of bacteria which are liable to occur in cream in this vicinity. Bacillus No. 41 has been in my possession nearly two years. During that time it has been subject to a large variety of conditions and yet it has not changed its character to any appreciable extent. It has appeared to those using the culture that the aroma produced in butter at the present time is stronger and better than that produced a year ago, but beyond this slight change, no effect has been produced upon the culture by the various methods of cultivation, that have been hitherto used. It is, however, impossible to predict whether this aroma producing quality my not disappear under the conditions of laboratory experiment and that Bacillus No. 41 may after a little lose its value. Cultivation under different temperatures has produced certain changes. At first it was found to grow slightly in the culture oven, but after a year's cultivation at ordinary temperatures, it was found to have lost its power of growing at such high temperatures entirely. The power was brought back again, however, in the following manner. Inoculations upon agar were allowed to grow for one day at ordinary temperatures and then placed in the culture oven for a day. On the third day another culture was made from it on agar and the same conditions repeated. Under this method of culture it was found that slight growth soon began to appear in the oven and after six weeks a variety was obtained which grows more rapidly in the culture oven than in the ordinary temperatures. At the present time I have therefore two varieties differing only in their power of growing in the culture oven.

Bacillus No. 41 thus shows itself as different from other species of bacteria used in cream ripening in two respects, both of which are of much importance. 1) It is not a souring organism but

so far as its relation to cream is concerned it simply adds a desirable flavor. 2) In its use in creameries there is not needed any previous treatment of the cream in order that good results may be obtained. This, of course, considerably increases its practical value in butter making, and convinces the author that this organism is likely to be of more practical use in butter making than the cultures of „cream souring“ organisms which have been hitherto used.

Middletown, 6. March 1895.

Ueber Nitrat zerstörende Bakterien und den durch dieselben bedingten Stickstoffverlust.

[Mitteilung aus der landwirtschaftlichen Versuchsstation in Bonn.]

Von

R. Burri und **A. Stutzer.**

(Fortsetzung.)

Verhalten gegen Farbstoffe. Mit wässerigem Methylviolett färben sich Bacillen aus jungen Bouillonkulturen ganz gleichmäßig; sehr deutlich tritt in solchen Präparaten eine Verjüngung der beiden Stäbchenenden, namentlich bei in Teilung begriffenen Formen hervor. Bei Bacillen aus zwei Tage alten Agarplatten sind bei gleicher Färbungsweise die Pole oft viel intensiver gefärbt als das Mittelstück.

Temperaturverhältnisse. Der Bacillus wächst ungefähr gleich gut bei Zimmer- wie bei Bluttemperatur.

Sauerstoffbedürfnis. Der Bacillus gedeiht ebenso bei Abschluß von Sauerstoff, wie bei freiem Zutritt desselben, in letzterem Falle wird jedoch die Gärwirkung beeinträchtigt.

Farbstoffbildung. Aus schwach alkalischen Kartoffeln bildet sich eine fleisch- bis pfirsichrot gefärbte Auflagerung.

Sporenbildung konnte unter keinen Umständen beobachtet werden.

Chemisch-physiologisches Verhalten. In 0,3 Proz. Nitratbouillon ruft der Bacillus lebhafte Gärung hervor. Es entsteht dabei ein Gas, das fast nur aus Stickstoff besteht. Nitrate oder Nitrite sind in der bei 30° C nach 2—3×24 Stunden vergorenen Kultur nicht mehr nachzuweisen.

Pathogenetische Verhältnisse sind nicht untersucht.

Auch diese Art, welche nach verschiedenen Richtungen hin so charakteristische Merkmale aufweist, war an Hand der uns zugänglichen Bakterienbeschreibungen nicht zu identifizieren. Vor allem aber ist sie unter den bis jetzt beschriebenen Arten, welche Salpeter reduzieren und dabei Stickstoff produzieren, nicht aufgeführt. Wir belegen dieselbe vorläufig mit dem Namen B. denitrificans II. Wie oben angeführt wurde, haben wir dieselbe aus

altem Stroh isoliert. Wir zweifeln nicht daran, daß dieselbe auch auf anderen Pflanzenabfällen verschiedener Art, wie auch im Erdboden vorhanden ist und dort durch geeignete Verfahren isoliert werden kann.

E. Chemisch-physiologische Versuche.

Die Reinkulturen, deren Herstellung und Beschreibung Gegenstand der vorhergehenden Abschnitte bildet, setzen uns in den Stand, auf zwei ganz verschiedenen biochemischen Wegen Salperzerstörung zu bewirken, einmal durch Impfung salpeterhaltiger Nährböden mit B. coli plus B. denitrif. I, also mittels Symbiose zweier Organismen, das andere Mal durch Impfung mit B. denitrif. II, also durch die Lebensthätigkeit eines und desselben Organismus. Ganz abgesehen von dem großen theoretischen Interesse, welches die Erforschung der bei diesem Reduktionsprozesse mitspielenden stofflichen Umsetzungen beansprucht, fordern die gefundenen Thatsachen auch von praktischen Gesichtspunkten aus zu einem eingehenden Studium dieser noch fast ganz im Dunkeln liegenden Verhältnisse auf. In diesem Abschnitte soll noch eine Anzahl von Versuchen mitgeteilt werden, die über einige der wichtigsten der in den Vordergrund dringenden Fragen theoretischer und praktischer Natur womöglich Aufschluß geben sollen. Wir stellen dabei die Resultate in den Fällen, wo mit beiden genannten Reduktionstypen gearbeitet wurde, des Vergleiches halber einander gegenüber.

a) Verhalten in künstlicher Nährlösung.

Die bei den bisherigen Arbeiten verwendete flüssige Nährlösung war eine gewöhnliche, 0,05 Proz. Soda enthaltende Nährbouillon, welcher p. Lit. ca. 3 g Natriumnitrat zugefügt waren. Diese Bouillon bildete sowohl für B. coli plus B. d. I wie auch für B. d. II ein für das Zustandekommen der Salpetervergärung möglichst günstiges Substrat. Für gewisse Zwecke war es aber wünschenswert, mit einem Medium zu arbeiten, dessen Zusammensetzung sich besser beherrschen ließ, als dies bei der durch Fleischextraktion hergestellten Bouillon der Fall ist. Wir wählten die künstliche Nährlösung, wie sie Giltay und Aberson (l. c.) bei ihren quantitativen Gärversuchen benutzt haben und welche folgende Zusammensetzung hat:

Zu einem Liter Wasser 2 g Salpeter 2 g Magnesiumsulfat
2 „ Dextrose 5 „ Citronensäure
2 „ Kaliumphosphat
0,2 „ Chlorcalcium
2 Tropfen Eisenchlorid.

Nitrat und Dextrose wurden für sich gelöst, ebenso die übrigen Bestandteile zusammen für sich. Die letztere Mischung wurde während des Kochens über freier Flamme im Becherglase durch Soda neutralisiert. Nachher wurden die beiden Lösungen zusammengegeben und das Ganze zum Liter aufgefüllt. Die Flüssigkeit war vollkommen klar mit einem Stiche ins Gelbe und bewahrte diese Eigenschaften auch während des Sterilisierns im Dampftopfe. Giltay und Aberson

hatten bei Verwendung dieser Lösung meist noch etwas Kalciumcarbonat zugefügt, weil sie auf Grund gewisser Erfahrungen der Anwesenheit dieses Körpers eine das Wachstum ihres Bacillus fördernde Wirkung zuschrieben.

Vorerst prüften wir diese Lösung darauf:

1) ob darin bei Impfung mit den von uns isolierten, Nitrat zerstörenden Bakterien auch so schnell und glatt vor sich geht wie in Nitratbouillon;

2) ob ein Unterschied zu bemerken ist bei Weglassung oder Zusatz einer geringen Menge kohlensauren Kalkes.

Weil bei Verwendung von Nitratbouillon wir immer spätestens 2×24 Stunden nach der Impfung Gasentwickelung beobachten konnten, wurde für die Versuchsdauer nur 4 Tage vorgesehen.

Aus folgender Zusammenstellung ist der Ausfall dieser Gärversuche zu ersehen.

Nährlösung	nach 24 Stdn.		nach 2×24 Stdn.		nach 3×24 Stdn.		nach 4×24 Stdn.	
	coli + I	II	coli + I	II	coli + I	II	coli + I	II
2 Gläschen mit je 20 ccm 0,3-proz. Nitratbouillon schwach (0,05 Proz. S) alkalisch	sehr trübe	normale Schaumbildung	normale Schaumbildung	vergoren	vergoren	—	—	—
2 Gläschen mit je 20 ccm künstlicher Nährlösung neutral ohne $CaCO_3$	klar	normale Schaumbildung	klar	vergoren	klar	—	klar	—
2 Gläschen mit je 20 ccm künstl. Nährlösung neutral mit einer Messerspitze $CaCO_3$	klar	normale Schaumbildung	klar	vergoren	klar	—	1 Gl. trüb. 1 Gl. klar	—

Danach besteht also in dem Verhalten von B. coli + B. d. I einerseits und B. d. II andererseits gegen die genannte künstliche Nährlösung ein tief greifender Unterschied. Letztere Art entwickelt sich und vergärt den Salpeter gerade wie in Nitratbouillon, die beiden symbiotischen Arten hingegen vergären nicht nur keinen Salpeter, sondern entwickeln sich überhaupt nicht in der gewohnten Zeit, wie das Klarbleiben der Nährlösung beweist. Da in einem der Gläschen mit Kalkzusatz nach 4 Tagen doch Trübung eingetreten war, glaubten wir das Ausbleiben des Wachstums der neutralen Reaktion, die sich von einer spurenhaft sauren nicht mit absoluter Schärfe aus einander halten läßt, zuschreiben zu müssen. Es wurden deshalb nochmals 6 Versuchsgläschen, welche die künstliche Nährlösung in den gleichen Mengen enthielten, mit B. coli + B. d. I geimpft; 2 Gläschen waren neutral, 2 enthielten eine Zugabe von 0,05 Proz. und 2 eine solche von 0,1 Proz. wasserfreier Soda. Die Resultate blieben aber dieselben wie in der Tabelle: 4×24 Stdn. Nach der Impfung waren sämtliche Gläschen vollkommen klar und gaben dementsprechend maximal starke Nitratreaktion. Also war die Reaktion des Substrats

entschieden nicht als die entwickelungshemmende Ursache anzusehen. Diese letztere mußte vielmehr in der Zusammensetzung der künstlichen Nährlösung selbst, und zwar speziell in dem Mangel komplizierter N-haltiger Verbindungen zu suchen sein. Die verwendete Nährlösung ist nämlich in ihrer Art dadurch bemerkenswert, weil sie als einzige N-Quelle Nitrat enthält. Giltay und Aberson hatten ursprünglich der Nährlösung eine entsprechende Menge von Asparagin zugegeben, von der allgemeinen Ansicht ausgehend, daß eine organische N-Verbindung einen notwendigen Bestandteil einer für Bakterien geeigneten Nährlösung bilden müsse. Als diese Autoren bei Verfolgung der Zersetzungsprodukte des Salpeters infolge von Ammoniakabspaltung aus dem zugesetzten Asparagin auf Schwierigkeiten stießen, versuchten sie unter Weglassung dieser Verbindung zum Ziele zu kommen, und der Erfolg war auf ihrer Seite. Der fragliche Organismus gedieh ganz gut und vergärte vollständig das ihm gereichte Nitrat. Ebenso förderlich scheint diese Nährlösung unserem B. d. II zu sein, währenddem B. coli und B. d. I den Mangel an Pepton oder verwandten Körpern offenbar schwer empfinden. Wir müssen noch nachtragen, daß das Wachstum dieser Arten in der nur nitrathaltigen Nährlösung doch nicht vollständig unterdrückt wird, wie schon jene vereinzelte trüb gewordene Kultur beweist. Bei einer späteren Versuchsreihe mit schwach alkalischer künstlicher Nährlösung blieben die mit B. coli und B. d. I geimpften Gläschen lange Zeit vollständig klar, aber nach 10 Tagen trat Trübung ein, welche in den folgenden Tagen ziemlich intensiv wurde; Gärung blieb jedoch in diesen Kulturen aus. Wir benutzten deshalb in der Folge die künstliche Nährlösung in obiger oder unwesentlich abgeänderter Zusammensetzung nur für Studien an B. d. II.

b) Gärungsversuche mit steigenden Nitratmengen.

Die Thatsache, daß 3 g Nitrat per Liter sehr oft schon 2×24 Stdn. nach der Impfung verschwunden waren, berechtigten zu der Annahme, daß sich mit Hilfe unserer Reinkulturen noch viel höhere Nitratmengen vollständig vergären ließen. Die ersten Versuche in dieser Richtung wurden mit B. coli plus B. d. I vorgenommen. Wo es darauf ankommt, möglichst normale Wirkungen zu erzielen, bedient man sich eines Impfmaterials aus einer vergorenen Mischkultur; die Gärung tritt meist rascher ein und verläuft prompter als bei Verwendung von Material aus den beiden getrennten, auf festem Nährboden aufbewahrten Reinkulturen. Das Nitrat wurde in steriler Lösung mittels sterilisierter Pipette den einzelnen Bouillongläschen unmittelbar vor der Impfung zugemessen. Die Versuchskala erstreckte sich über 20 Stufen, deren jede von der folgenden sich um $^1/_{10}$ Proz. Gehalt an Nitrat unterschied. Der Gehalt bewegte sich von 0,1 bis 2,0 Proz. Die geimpften Gläschen wurden wie gewöhnlich in den auf 30° C eingestellten Schrank gebracht.

Das Resultat war folgendes: In sämtlichen Gläschen war Schaumbildung eingetreten, aber zu sehr verschiedenen Zeitpunkten, wobei sich ein Zusammenhang des Salpetergehaltes mit dem Eintreten der Gasentwickelung nicht bemerkbar machte. So waren z. B. nach

24 Stdn. nur vereinzelte Kulturen, unter anderen die vom niedrigsten und höchsten Salpetergehalte, in Gärung geraten. Nach 2×24 Stdn. fehlten noch 3 und nach 3×24 Stdn. waren sämtliche Kulturen in Gasentwickelung begriffen. 3 Tage nach der Impfung ergab eine diesbezügliche Prüfung nur bei den 4 ersten Stufen Abwesenheit von Nitrit und Nitrat; eine gleichzeitige Prüfung auf Nitrit ergab starke Reaktion bei 0,5 Proz., 0,6 Proz. und 0,7 Proz. Salpetergehalt; die sämtlichen übrigen Kulturen von höherem Gehalte zeigten starke Reaktion mit Diphenylamin und Schwefelsäure. Erst nach 7 Tagen hatte auch die Kultur mit 0,5 Proz. ursprünglichem Salpetergehalte alles Nitrit und Nitrat verloren, sämtliche höheren Stufen mit Ausnahme von 0,6 Proz., welche Kultur Spuren von Nitraten anzeigte, gaben nach weiteren 8 Tagen noch starke Reaktion, worauf die Prüfungen eingestellt wurden. Diese Kulturen machten übrigens gar nicht den Eindruck, als ob sie noch weitere Arbeit leisten wollten, denn der ursprüngliche feinblasige Schaum war jetzt großblasig oder ganz verschwunden, wie bei vergorenen Kulturen von einem Gehalte, der niedriger als 0,6 Proz. Sonach ist für B. coli plus B. d. I die Grenze des Zusatzes von Salpeter, welcher innerhalb 10 Tagen vollständig vergären soll, bei 5 bis 6 g pro Liter Bouillon schon erreicht. Auf die gärungshemmenden Ursachen werden wir weiter unten zu sprechen kommen. Als wir in gleicher Weise Bouillon, die 0,1 bis 2 Proz. Salpeter in 20 aufeinander folgenden Abstufungen enthielt, mit B. d. II impften, konnten wir feststellen, daß auch hier die Grenzwerte für das Nitrat, das noch vollständig vergoren wird, ungefähr dieselben sind. Zur Impfung wurde je eine Oese einer 4 Wochen alten, mit einer Gelatineplattenkolonie angelegten vergorenen 0,3-proz. Nitratbouillonkultur verwendet. Das Impfmaterial war von bester Qualität, denn nach 15 Stunden war schon Gasentwickelung zu konstatieren bei den Gläschen mit 0,5, 0,7 und 1,8 Proz. Salpeter; nach 20 Stunden zeigten sämtliche Kulturen starke Schaumbildung. Auch hier stand das Eintreten der Gärung in keinerlei Zusammenhang mit der Konzentration der Salpeterlösung. Nach 3×24 Stdn. war der Schaum in sämtlichen Gläschen großblasig, aber nur diejenigen mit 0,1 Proz., 0,2 Proz., 0,3 Proz. und 0,4 Proz. (später folgten 0,5 und 0,6 Proz.) zeigten keine Reaktion mit Diphenylamin und H_2SO_4. Alle übrigen Kulturen sahen aber aus wie die vollständig vergorenen und machten den Eindruck, als ob der Gärungsprozeß durch irgend ein hemmendes Agens plötzlich und überall gleichzeitig unterbrochen worden wäre. Wir glaubten anfänglich diese Unterbrechung der Gärung durch eine bei höherem Salpetergehalte stattfindende Anhäufung von salpetrigsauren Salzen erklären zu müssen, deren schädlicher Einfluß auf pflanzliche Organismen hinlänglich bekannt ist. Dadurch, daß wir den Salpeter nur nach dem Maße des Verschwindens in kleinen Quantitäten zusetzten, suchten wir den Gesamteffekt der Gärung zu erhöhen. Es gelang dies jedoch nicht, denn als die einzelnen Zugaben eine Summe erreicht hatten, die den oben angegebenen Grenzwerten entsprach, war die Gärungsenergie vollständig erschöpft.

Sodann wurde eine Kulturserie angesetzt, die überhaupt kein Nitrat, sondern nur Nitrit in wachsender Menge enthielt. Die folgende Zusammenstellung zeigt, daß recht bedeutende Mengen von salpetrigsaurem Alkali in ungefähr der gleichen Zeit vollständig vergoren werden, wie die äquivalenten Mengen von Nitraten.

Nitritgehalt	B. coli + B. d. I			B. d. II		
	nach 24 Stdn.	nach 2×24 Std.	nach 3×24 Std.	nach 24 Stdn.	nach 2×24 Std.	nach 3×24 Std.
0,01 Proz.	vergoren			vergoren		
0,05 „	vergoren			vergoren		
0,10 „		vergoren			vergoren	
0,15 „		vergoren			vergoren	
0,20 „			vergoren		vergoren	
0,25 „			vergoren		vergoren	

Dieses für Nitrit so günstige Ergebnis bestätigte nur die Resultate der Versuche mit fraktionierter Nitritzugabe und veranlaßte uns, die gärungshemmende Ursache anderswo zu suchen. Dem ganzen Verhalten der Kulturen nach zu schließen, stand es außer Zweifel, daß es sich dabei um irgend ein Produkt handelte, welches unter dem Einflusse des Gärungsprozesses in dem Maße gebildet wird, in welchem die Zerlegung des Nitrates fortschreitet.

Schon im Anfange unserer Arbeiten hatten wir bemerkt, daß Kulturen, die kurz nach der Impfung noch schwach sauer reagierten, nach der Gärung stark alkalische Reaktion zeigten, ohne indes eine quantitative Bestimmung des gebildeten freien bezw. kohlensauren Alkalis vorzunehmen. Nachträglich vorgenommene Analysen dieser Art belehrten uns, daß während der Gärung so große Mengen freien Alkalis entstehen, daß die gärungshemmende Wirkung, wie sie in Kulturen mit höherem Salpetergehalte konstatiert wurde, sich ungezwungen darauf zurückführen läßt.

c) Salpetergärung bei Gegenwart von kohlensaurem Alkali.

Da die Zerlegung des Salpeters in unseren Kulturen, wie weiter unten noch ausführlich nachgewiesen wird, auf die Weise erfolgt, daß ein Teil des Nitratstickstoffes als solcher entweicht, ein anderer Teil hingegen als organischer N in der Kultur zurückbleibt, so kann bei Voraussetzung einer neutralen oder schwach alkalischen Nährlösung die Frage nach dem Verbleibe des ursprünglich im Salpeter enthaltenen Alkalis nur in einem Sinne entschieden werden. Dasselbe muß sich in der vergorenen Kultur als Alkalihydrat oder Alkalikarbonat wiederfinden und als solches die Reaktion der Nährlösung je nach der vorhandenen Menge beeinflussen. Nun aber kann, der Berechnung nach, eine 0,5-proz. Nitratbouillon, wenn sie durch unsere nitratreduzierenden Bakterien vergoren wird, eine Flüssigkeit von al-

kalischer Reaktion liefern, welche derjenigen einer Sodalösung von 0,31 Proz. entspricht. Unsere diesbezüglichen Versuche mit vergorenen Bouillonkulturen gaben indes immer Werte, welche die aus dem zugesetzten Nitrate berechneten noch überstiegen; die Ursache dieser Abweichungen liegt jedenfalls in dem Vorhandensein von aus dem Fleischextrakte stammenden fettsauren Alkalien, die teils bei der Gärung in Alkalikarbonat verwandelt werden, teils bei der Titrierung eine Zersetzung unter Abspaltung flüchtiger Fettsäuren erleiden. Dieser Uebelstand fiel bei der künstlichen Nährlösung nach Giltay und Aberson weg, wurde aber durch einen anderen ersetzt, nämlich durch die große Menge citronensauren Alkalis. Auch hier erwies sich die in vergorenen Kulturen vorhandene Alkalinität bedeutend höher, als sie nach der Menge des vergorenen Salpeters zu erwarten war, und zwar, wie wir mit Sicherheit annehmen, weil neben der Bildung von Alkalikarbonat aus Salpeter infolge eines selbständigen Prozesses unter dem Einflusse der Lebensthätigkeit unserer Bakterien eine teilweise Resorption des Citrates unter Entstehung von kohlensaurem Alkali nebenherläuft. Einfaches Weglassen des citronensauren Alkalis hatte aber eine entschieden ungünstige Wirkung auf Wachstum und Gärung von B. d. II zur Folge und so gingen wir dazu über, die gärungshemmende Wirkung des Alkalikarbonates durch direkte Zugabe zu den Kulturen zu studieren und die Grenze der Alkalinität festzustellen, bei welcher noch Wachstum, bezw. Gärung erfolgt.

(Schluß folgt.)

Zusammenfassende Uebersichten.

Ueber tierische Schädlinge der Zuckerrübe.

Sammelreferat

von

A. Stift,

Adjunkt der chem.-techn. Versuchsstation des Centralvereins für Rübenzuckerindustrie in der österr.-ungar. Monarchie.

Die Zuckerrübe gehört zu denjenigen landwirtschaftlichen Kulturpflanzen, welche am meisten das Angriffsobjekt von tierischen und pflanzlichen Schädlingen bildet. Darin liegt für die Rentabilität des Rübenbaues, der für die größte landwirtschaftliche Industrie das zu verarbeitende Rohprodukt liefert, eine große Gefahr. Die Kenntnis der Krankheiten der Zuckerrübe ist durch die eingehenden Studien einer großen Anzahl von Gelehrten zu einem so bedeutenden Umfange gelangt, daß sie beinahe als eigene Wissenschaft anzusprechen ist. Selbst wenn man nur auf die tierischen Feinde der Zuckerrübe allein eingehen möchte, würde man zu einem umfangreichen Aufsatze gelangen. Da aber eine vollständige Behandlung der tierischen Feinde nicht in den Rahmen dieser Zeitschrift passen würde, so soll in den nach-

folgenden Betrachtungen — allerdings in aller Kürze — nur auf jene tierischen Feinde der Zuckerrübe hingewiesen werden, welche sich infolge ihrer mikroskopischen Kleinheit nur allzu leicht der Beobachtung entziehen, wodurch es auch kommt, daß diese Tiere jahrzehntelang ihre außerordentlich verderbliche Wirkung ungehindert ausüben konnten und wegen ihrer schnellen Fortpflanzungs- und leichten Verbreitungsfähigkeit einen großen wirtschaftlichen Schaden verursachten.

Die allermeiste Beachtung verdient vor allem die sogenannte Nematodenkrankheit. J. v. Liebig hat die Ursache der Rübenmüdigkeit oder, mit anderen Worten, die Abnahme der Rübenerträge in einer Erschöpfung des Bodens, in dem ungenügenden Ersatze der der Rübe nötigen Mineralstoffe gesucht. Diese Ansicht war jedoch eine irrige, wie zahlreiche Versuche und Ergebnisse der Praxis bewiesen. J. Kühn gelang es, auf Grund jahrelanger und mühseliger Versuche in unzweifelhafter Weise nachzuweisen, daß die vorzugsweise Ursache der „Rübenmüdigkeit" in dem Auftreten der Rübennematoden liegt. Der eigentliche Entdecker des Rübennematoden ist der Bonner Botaniker H. Schacht (1), welcher diesen mikroskopisch kleinen Fadenwurm zuerst im Jahre 1859 auf Zuckerrüben beobachtete. Man schenkte damals jedoch seinen Beobachtungen wenig Beachtung, trotzdem er den Rübennematoden sofort als einen gefährlichen Feind des Rübenbaues erkannte. Nach seinem Tode geriet der Nematode in wissenschaftlicher Beziehung fast ganz in Vergessenheit. Auch die Untersuchungen von Schmidt (2) im Jahre 1871 haben wenig Aufmerksamheit erregt, bis erst die weiteren glänzenden Forschungen von J. Kühn (3) und das Ueberhandnehmen der Rübenmüdigkeit an vielen Orten Deutschlands die richtige Beachtung dieses Rübenschädlings hervorriefen.

Der Rübennematode — Heterodera Schachtii Schmidt — gehört zu den Fadenwürmern und ist ein mikroskopisches, der Muskeltrichine und mehr noch den in verschiedenen unserer Kulturpflanzen vorkommenden Aelchen (Anguillula und Tylenchus) nahestehendes Rundwürmchen, das nur in einer bestimmten Entwickelungsform — als trächtiges Weibchen — dem unbewaffneten Auge sichtbar wird. Eine ausgezeichnete Untersuchung über den Bau und die Entwickelung dieses Tieres hat A. Strubell (4) gegeben, auf welche wir uns im Nachfolgenden beziehen. Im Rübennematoden lernen wir einen Vertreter der artenreichen Gruppe der Nematoden kennen, welcher einen so auffallenden geschlechtlichen Dimorphismus besitzt, wie er bis jetzt nur in ganz seltenen Fällen bei Rundwürmern gefunden wurde. Die beiden Geschlechter besitzen, abgesehen von dem Baue der Sexualorgane nnd wesentlicher Verschiedenheit in Bezug auf ihre Größe, eine weitgehende Differenz in ihrer Gestalt. Während das Männchen den Charakter der Larve im ausgebildeten Zustande im großen und ganzen bewahrt, schwillt das Weibchen im Laufe seiner Entwickelung zu einem kugeligen Gebilde an, das äußerlich in nichts mehr Aehnlichkeit mit dem männlichen Tiere zeigt. Das Männchen besitzt im Einklange mit einer ziemlich lebhaften Beweglichkeit einen langen, schlanken und cylindrischen Körper. Seine

Länge variiert etwas; sie mißt meist 0,8—0,9 mm, in einigen Fällen auch 1 mm. Die Dicke ist fast überall gleichmäßig und der Durchschnitt beinahe kreisförmig. Die Gestalt des Weibchens kann man am besten mit einer Citrone vergleichen, deren beide Pole etwas angezogen sind. Die Größe des Weibchens variiert zwischen 0,8 und 1,3 mm. Die Breite mißt dementsprechend 0,6 oder 0,5 bis 0,9 mm. Alle Eier von Heterodera, mit Ausnahme weniger, durchlaufen ihre Entwickelung innerhalb des mütterlichen Körpers. Nachdem das Ei befruchtet ist und eine feste Schale bekommen hat, beginnt die Entwickelung im Uterus. Der Uterus platzt aber an seinem unteren Ende sehr früh, denn sobald die Produktion der Eier sehr lebhaft wird und ein Teil seinen Weg nach außen genommen hat, finden sich schon einzelne Eier in der Leibeshöhle, und nehmen hier an Zahl nun so rasch zu, daß sie die Eingeweide durch ihre Masse aus der Lage rücken. Darm und Muskulatur degenerieren schließlich, und das Tier stirbt, wenn der Genitalapparat sich erschöpft hat, ab, so daß es mit seiner Chitinhülle nur noch eine Brutkapsel darstellt, die in ihrem Inneren eine wechselnde Zahl von Eiern (im Durchschnitte 300—350) birgt. Die Menge der Eier ist relativ gering, aber man muß die günstigen natürlichen Existenzbedingungen des Tieres berücksichtigen, um in den großen Verheerungen, welche diese Nematoden anrichten, eine Erklärung zu finden. Das Ei mißt 0,08 mm in der Länge und 0,04 mm in der Breite und besitzt 2 Eihäute, nämlich die Dotterhaut und die festere Schalenhaut. Die postembryonale Entwickelung geschieht mittels einer Metamorphose, die aber ziemlich kompliziert verläuft. Die erste frei lebende Larvenform ist ein kleines Würmchen, ca. 0,36 mm lang und 0,16 mm dick, welches die gewöhnliche cylindrische Nematodenform besitzt. Sobald die Ausbildung genügend vorgeschritten ist und auch die Wärme und Feuchtigkeit für die weitere Entwickelung günstig sind, verläßt das Tierchen die mütterliche Brutkapsel, windet sich mit Zuhilfenahme eines Stachels (welchen es schon wie das ausgebildete Männchen besitzt) durch die Erde und sucht eine Pflanze zur Weiterentwickelung. Die Nährpflanze des Tieres ist hauptsächlich die Zuckerrübe, doch geht dasselbe auch noch auf eine ganze Reihe anderer Pflanzen. Gewöhnlich sucht die Larve Seitenwurzeln von ca. 1 mm Durchmesser auf, dringt durch die Epidermis und nimmt ihren Weg durch das saftige, großzellige Parenchym. Dicht unter der Rinde kommt sie nun zur Ruhe, wo an ihr jetzt bedeutende Veränderungen des äußeren und inneren Baues vor sich gehen. Die cylindrische Form verschwindet und der Wurm nimmt eine plumpe Gestalt an. Wenn diese Anschwellung nun ein bestimmtes Maximum erreicht hat, dann tritt auck die Teilung der Geschlechter ein. Bei einem Teile der Würmer, der sich zu Männchen entwickelt, tritt eine Sistierung des Wachstums ein, bei dem anderen Teile schreitet dasselbe bis zur vollkommenen Entwickelung des Weibchens fort. Die bauchige Form geht in eine kugelige über. Durch die dabei eintretende Ausdehnung platzt die Wurzelepidermis und das Tierchen tritt mit seinem Hinterteile aus der Wurzel heraus. In dieser Lage wird höchst wahrscheinlich die Begattung vollzogen. Nach einiger Zeit nun zerfallen die Organe und

das Muttertier wird zur Brutkapsel. Beim Männchen ist die Entwickelung wesentlich komplizierter. Die männliche Larve entwickelt sich innerhalb der Larvenhaut zu einem dünnen, schlank-cylindrischen Wurme, sprengt alsdann dieselbe, durchbohrt mit seinem Stachel die Wurzelepidermis und gelangt so in die Erde. Der Wurm nimmt alsdann seinen Weg zu dem Weibchen, befruchtet dasselbe und geht dann alsbald zu Grunde. Die Entwickelungsdauer ist unter günstigen Bedingungen beim Männchen 5—6 Tage, manchmal auch nur 4 Tage. Die ganze Entwickelung geht meist in 4—5 Wochen vor sich, so daß in einem Jahre 6—7 Generationen auf einander folgen können. Nimmt man an, daß ein Weibchen durchschnittlich 300 Embryonen erzeugen kann, und daß letztere sich wieder zur Hälfte zu weiblichen Tieren entwickeln, so ergiebt sich nach fünf Generationen eine Nachfolge von 151 Millionen Individuen, nach 6 Generationen eine solche von 22781 Milliarden! Neben Liebscher und Hollrung lieferte Voigt (5) einen weiteren Beitrag zur Naturgeschichte der Rüben-, Hafer- und Erbsennematoden. Voigt ist nach genauer Untersuchung der Hafer- und Rübennematoden der Ansicht, daß wirklich von einander abweichende Formen vorhanden sind. Während nämlich die Eier und Larven der beiden vollkommen übereinstimmen, waren die erwachsenen Weibchen des Rübennematoden im Durchschnitte etwas größer als die des Hafernematoden, denn erstere maßen 0,6 bis 1 mm, letztere dagegen nur 0,5 bis 0,8 mm. Dieser Unterschied in der Größe bedeutet allerdings nicht viel; wichtiger ist aber folgender Umstand: Wenn das Muttertier abgestorben ist, so wird seine die Eier schützende Haut zuerst gelb und schließlich fast schwarz. Diese Haut ist von einer Ausschwitzung, der sogenannten subkrystallinischen Schicht, überzogen, und zeigen in dieser nun die Rüben- und Hafernematoden einen in die Augen springenden, leicht wahrnehmbaren Unterschied. Die subkrystallinische Schicht der Rübennematoden ist dünn, häufig stückweise oder ganz abgebröckelt, ihre Dichte beträgt durchschnittlich über 0,01 mm, oft noch weniger. Bei sämtlichen Hafernematoden fällt sie sofort durch ihre beträchtliche Dicke auf. Sie bildet einen 0,04 mm starken, weißlichen, wachsartigen Ueberzug, welcher jedoch keine einheitliche Masse darstellt, sondern mosaikartig aus einzelnen kleinen Stückchen zusammengesetzt ist. Dieser Ueberzug ist aber so wenig widerstandsfähig, daß er bei der leisesten Berührung abfällt und die Haut des Weibchens zum Vorscheine kommt. Dieser Umstand, daß die Haut so leicht abfällt, wird der Grund gewesen sein, daß man bis jetzt diesen Unterschied zwischen Rüben- und Hafernematoden übersehen oder ihm wenigstens keine Bedeutung beigelegt hat. Dieser Unterschied in der subkrystallinischen Schicht würde aber noch nicht dazu berechtigen, den Hafernematoden für eine besondere Tierart anzusprechen, wenn sich nicht zugleich die untersuchten Rüben- und Hafernematoden, ebenso wie die von Liebscher untersuchten Erbsennematoden in der Wahl ihrer Nahrungspflanzen so verschieden verhalten hätten. Nach den von J. Kühn und später von Ritzema-Bos studierten Stengelälchen (Tylenchus), von welchem man anfangs 3 verschiedene Tierarten (Species) annahm, bis man sich überzeugte,

daß man es in der Wirklichkeit nur mit einer Art zu thun habe, liegt die Vermutung nahe, daß man es auch bei der Heterodera nicht mit mehreren verschiedenen Tierarten, sondern nur mit verschiedenen Anpassungsformen einer einzigen Tierart zu thun hat. Die unheilvolle Thätigkeit des Rübennematoden in Bezug auf die Nematodenkrankheit äußert sich auf dem Felde dadurch, daß die Rüben zuerst ein Abwelken der Blätter zeigen und dann endlich in vollständige Zersetzung übergehen. Dadurch sinken natürlich die Rübenerträge in ganz beträchtlicher Weise, ja es kann sogar der Rübenbau auf dem betreffenden Felde vollständig in Frage gestellt werden. Ein weiterer bedrohlicher Umstand liegt aber in einer weiteren Erscheinung, die M. Hollrung (6) nachgewiesen hat und die darin besteht, daß Heterodera Schachtii auch die Ursache einer neuen Krankheitserscheinung der Zuckerrübe, der „Rübenschwindsucht“ sein kann. Bei dieser Krankheit sterben zuerst die Blätter ab und hierauf tritt eine vollständige Verrottung der Rübenwurzel ein, welche derart rasch vor sich geht, daß nach etwa 14 Tagen von derselben nichts mehr zu bemerken ist. Da die Rübenschwindsucht die Rüben vollständig vernichtet, so ist ihr Auftreten immer mit fühlbaren Mindererträgen verbunden.

Hollrung (7) hat ferner nachgewiesen, daß das Vorkommen der Rübennematoden keineswegs ausschließlich mit einem forcierten Rübenbaue verbunden sein muß, da dieselben auch dort in verheerender Weise auftreten können, wo nachweislich niemals Rüben gebaut wurden. Dieselbe Erscheinung wurde auch nach den Erfahrungen von F. Strohmer und des Referenten in Oesterreich beobachtet.

Bezüglich der verschiedenen vorgeschlagenen Bekämpfungsmittel kann hier nicht eingegangen werden, um so mehr als die meisten sich absolut nicht bewährt haben oder deren Anwendung in der Praxis aus mancherlei Gründen nicht ausführbar ist, doch sei nur hervorgehoben, daß die von J. Kühn vorgeschlagene Methode mittels Fangpflanzenanbau bis jetzt die meisten Erfolge erzielt hat. Einen allgemein giltigen Wert kann man ihr jedoch leider auch nicht zusprechen, so daß es heute noch kein allgemein anwendbares und mit Erfolg durchzuführendes Bekämpfungsmittel der Nematodenkrankheit giebt.

Wir haben dem Rübennematoden im Vorstehenden darum eine eingehende Besprechung gegönnt, nachdem dieser Parasit bereits eine bedeutende Verbreitung in allen rübenbautreibenden Ländern gefunden hat und für den national-ökonomisch wichtigen Rübenbau zu einer sehr ernstlichen Gefahr geworden ist. In Deutschland hat man zum Zwecke der energischen Bekämpfung im Jahre 1889 sogar eine eigene „Versuchsstation für Nematodenvertilgung und Pflanzenschutz in Halle a. S.“ errichtet, welche unter der Leitung von Dr. M. Hollrung steht und bereits eine segensreiche Thätigkeit entfaltet hat. In Frankreich wurde das Vorkommen der Rübennematoden im Jahre 1884 durch A. Girard konstatiert. F. Strohmer (8) hat nachgewiesen, daß die Rübennematoden in Oesterreich-Ungarn, mit Ausnahme von Schlesien, Galizien und dem jüngsten

Rübenlande Europas, Bosnien, in allen Rübenbau treibenden Ländern der Monarchie aufgetreten sind [1]).

Mit den Rübennematoden sind aber unsere Kenntnisse über die teilweise mikroskopisch kleinen tierischen Schädlinge der Zuckerrübe keineswegs abgeschlossen. Durch neuere Forschungen wurden weitere tierische Feinde bekannt, die ebenfalls geeignet sind, dem Rübenbaue großen Schaden zu verursachen und in ihrer verderblichen Wirkung den Rübennematoden gleichkommen. F. Veydovský (9) ist der Ansicht, daß die Enchytraeiden, zur Familie der borstentragenden Ringelwürmer gehörig, verderblicher für die Rüben sind, als die Rübennematoden. Er war ursprünglich der Meinung, daß die vermeintliche, durch die Enchytraeiden hervorgerufene Krankheit der Rübe sekundärer Natur wäre, in dem Sinne, daß dieselben sich in die durch andere äußere Umstände verursachten Wunden der Rübe festsetzen würden. Durch seine weiteren Beobachtungen ist es aber zweifellos, daß die Enchytraeiden nicht nur in der Rübenwirtschaft, sondern auch in der Feldwirtschaft eine wichtige Rolle spielen.

Eingehende Untersuchungen über die Enchytraeiden liegen von J. Vaňha (10) vor. Diese Schädlinge rufen eine Art Rübenmüdigkeit hervor, welche nur schwer von der echten Rübenmüdigkeit (verursacht durch Heterodera Schachtii) zu unterscheiden ist. Den Schaden verursachen mehrere Arten von Enchytraeus aus der Klasse der Gliederwürmer der Ordnung der Oligochaeten. Die Enchytraeiden sind nicht klein, denn es sind je nach Art 5 mm, 15 mm und sogar 20 mm lange weiße Würmer. Der harte, walzenförmige Körper dieser Würmer erscheint unter dem Mikroskope als ein fester, mehr oder weniger durchsichtiger, resistenter Muskelschlauch mit einer starken Längs- und Quermuskelschicht, einem Hypoderm und einer dicken Cuticula, welche quer in viele Segmente geteilt ist und einen wohlentwickelten Geschlechts- und Verdauungsapparat in sich birgt. Im 2. Segment liegt ein muskulöser Schlundkopf (Pharynx), der weit emporschnellt und mit Vehemenz wieder zurückgezogen werden kann; er dient zugleich als Fangapparat. Bei dem Pharynx sind auch zwei ausstreckbare kleine Haken, sogenannte „Geschmacksläppchen“ zu entdecken. Dieselben sind aber keine Tastorgane, sondern Waffenorgane, mit denen der Wurm das Pflanzengewebe vorerst öffnet und sodann sich dessen Saftes bemächtigt. Die Enchytraeiden sind hermaphroditische Würmer und besitzen einen komplizierten Geschlechtsapparat. Vaňha ist nun zu der überraschenden Thatsache gekommen, daß die Enchytraeiden in Oesterreich-Ungarn mehr verbreitet sind, als die Rübennematoden selbst. Er konstatierte sie weiter auch in Deutschland und Frankreich. Andere Forscher konnten auch das Auftreten in Italien, Rußland, Nord-Amerika und selbst in dem nördlichen Eismeer nachweisen.

Weitere Untersuchungen liegen von Vaňha (11) über neue Rübennematoden der Gattung Dorylaimus vor und ent-

1) Nach einer Mitteilung von J. Dziengielewski („Gazeta Cukrownicza“ 1894) sind die Nematoden auch in Russisch-Polen beobachtet worden. Dieselben dürften übrigens hier vielfach nicht erkannt werden, da Referenten einige Zuckerfabrikanten bestimmt versicherten, diese Schädlinge nirgends gefunden zu haben.

deckte er 3 neue Arten. Von den gewöhnlichen Rübennematoden unterscheiden sie sich dadurch, daß sie bei weitem größer sind, einen hohlen und viel größeren Stachel tragen und daß die befruchteten Weibchen nicht anschwellen. Außerdem sind sie auch nicht an eine Pflanze gebunden, da sie leicht frei werden und weiter wandern. Die Art Dorylaimus condamni erreicht eine Länge von 3 bis 10 mm; ihr Körper besitzt eine walzenförmige, schlanke Gestalt mit einem stumpf abgestutzten Hinterende. Der Körper der Männchen ist besonders stark gebaut, um allen möglichen Beschädigungen, denen der Wurm im Boden ausgesetzt ist, widerstehen zu können. Charakteristisch für die ganze Gattung Dorylaimus ist der Stachel. Derselbe ist hohl, sehr stark und ähnlich einer Schreibfeder schief zugeschnitten und ist nichts anderes als eine modifizierte Speiseröhre (Oesophagus). Die reifen Eier im Mutterleibe sind 0,225 mm lang und 0,125 mm breit. Sie wachsen der Reihe nach heran und werden, sobald sie reif sind, sofort einzeln abgelegt, so daß sie sich nicht im Mutterleibe anhäufen, wie es bei Heterodera Schachtii der Fall ist. Infolgedessen schwellen die trächtigen Weibchen nicht an und verlieren auch nicht ihre Beweglichkeit. Eier können die Dorylaimen kaum in so beträchtlicher Zahl produzieren, wie die Rübennematoden, doch entwickeln sich die Eier wieder sehr rasch. Die Weibchen der Dorylaimen sind bei weitem zahlreicher als die Männchen, welche bei vielen Arten — und man zählte bis jetzt 52 — noch gänzlich unbekannt sind. Die Art Dorylaimus incertus ist größer als D. condamni, da sie durchgehends länger als 9 mm ist und sogar eine Länge von 15 mm erreicht. Männchen hat Vaňha nicht gefunden. Dieser Schädling kommt gemeinschaftlich mit D. condamni, aber in viel geringerer Anzahl vor. Die Art Dorylaimus macrodorus (der langstachelige Dorylaimus) ist ca. 3,7 mm lang, dem D. condamni sehr ähnlich, jedoch bedeutend zarter. Auch bei dieser Art konnte Vaňha keine Männchen vorfinden. Die Dorylaimen sind meist wanderlustige und lebhafte Tiere. Sie ernähren sich vom Pflanzensafte zumeist der feinen Wurzelfasern, indem sie das junge Rindengewebe mit ihrem mächtigen Stachel öffnen, sich mit den Saugpapillen der Mundöffnung fest anschließen und den Zellinhalt der Wurzel aussaugen. Die Tiere sitzen nur frei an den Wurzeln und können leicht auf andere Wurzeln übersiedeln. Wie die Enchytraeiden, so gehen auch die Dorylaimen nicht allein auf Rüben, sondern auch auf andere landwirtschaftliche Kulturpflanzen. Bei den Rüben charakterisiert sich die Krankheit dadurch, daß die Pflanzen auffallend im Wachstume zurückbleiben, kümmerlich vorwärts kommen oder gänzlich eingehen. In diesen äußeren Merkmalen stimmt die Krankheit, solange die Rüben im Boden bleiben, mit der Rübenmüdigkeit vollkommen überein, so daß ein Unterschied nicht gemacht werden kann. Beim Herausziehen läßt sich aber der Unterschied sofort erkennen, da an keiner Wurzelfaser die angeschwollenen, trächtigen Weibchen von Heterodera Schachtii zu sehen sind. Auch die Dorylaimen sind über ganz Europa verbreitet, und speziell in Oesterreich-Ungarn mehr als die Rübennematoden Heterodera Schachtii.

Vaňha (12) hat auch auf Zuckerrüben einige bis jetzt unbekannte Arten Tylenchus Bast. beobachtet, deren Kenntnis uns in stand setzt, mehrere noch nicht aufgeklärte Krankheitserscheinungen der Zuckerrübe zu erklären. Zu diesen Krankheiten gehören die Blattfäule der Rübe und die damit oft gleichzeitig auftretende Rübenkopffäule, Krankheiten, welche schon lange bekannt sind und unter verschiedenen Benennungen und Zurückführungen auf verschiedene Ursachen beschrieben wurden. Die Rübenfäule wird, obwohl sie schon in den vierziger Jahren in Frankreich und Deutschland aufgetreten ist, als neue Krankheit angesehen. Eine ganz ähnliche Krankheit wurde von Hollrung unter dem Namen „Rübenschwindsucht“ beschrieben, und als deren Ursache, wie früher hervorgehoben, Heterodera Schachtii erkannt. Wir werden noch auf diese Rübenkrankheiten später in einem Sammelreferate über die pflanzlichen Schädlinge der Zuckerrübe zurückkommen. Vaňha hat nun bei der Untersuchung mit dieser Krankheit befallener Rüben weder einen parasitischen Pilz, noch Heterodera, sondern eine große Anzahl anderer Würmer gefunden und darunter 3 neue Arten Tylenchus (Bast.) entdeckt, welche als eigentliche Ursache der Rübenfäule anzusprechen sind. Diese Würmer sind durchgehends mit gewaltigen Stacheln versehen, welche hohl sind und nicht bloß als Waffe, sondern auch zur Ernährung dienen. Diese Tylenchusarten[1]) sind bezüglich ihrer Form und Größe der Heterodera ähnlich, unterscheiden sich jedoch dadurch, daß sie in keinem Entwickelungsstadium anschwellen, sondern ihre Schlangenform und Beweglichkeit stets behalten. Man findet die Würmer unter dem zündschwammartigen Teile der angesteckten Stellen und dem eingesunkenen Unterhautgewebe, wo die zugewanderten Würmer ihre Eier ablegen. Vaňha fand die Würmer auch in den faulenden Blattstielen der Pheripherieblätter, während er dagegen keine oder nur eine ganz unregelmäßige Pilzbildung wahrnehmen konnte. Es kann daher mit großer Wahrscheinlichkeit darauf geschlossen werden, daß auch die Fäulnis der Randblätter durch diese Würmer verursacht wird. — Die größte dieser Tylenchusarten ist ein wenig größer als die Heterodera. Die beiden folgenden Arten sind kleiner, etwa 0,5—0,8 mm lang und kaum 0,002 mm dick. Die zwei ersten Arten sind häufig, während die dritte Art seltener ist. Eine ausführliche Beschreibung dieser Rübenschädiger behält sich Vaňha vor. Dieser Forscher (13) ist übrigens der Ansicht, daß auch die Ursache des Wurzelbrandes, eines der weit verbreitetsten Rübenkrankheiten, in dem Auftreten der obigen Tylenchusarten zu suchen ist. Auch auf diese hochwichtige und viel umstrittene Rübenkrankheit werden wir noch zurückkommen.

1) J. Kühn hat vor mehreren Jahren einen Rübenfeind gefunden, welcher zur Ordnung der Nematoden gehört, mit den Rübennematoden aber nicht verwandt ist. Er gab ihm den Namen Tylenchus und bemerkte, dafs er mit den jugendlichen Formen der Rübennematoden leicht verwechselt werden kann.

Litteratur.

1) Zeitschrift für Rübenzucker-Industrie. 1859, 1861, 1862.
2) " " " " 1871 und 1872.
3) Untersuchungen über die Ursache der Rübenmüdigkeit. (Berichte aus dem physiologischen Laboratorium des landwirtschaftlichen Institutes zu Halle a. S. Heft 3. 1881.)
4) Untersuchungen über den Bau und die Entwickelung des Rübennematoden Heterodera Schachtii Schmidt. (Bibliotheca Zoologica. Heft 2. 1888.)
5) Deutsche landwirtschaftliche Presse. 1892. p. 813.
6) Dritter Jahresbericht der Versuchsstation für Nematodenvertilgung und Pflanzenschutz in Halle a. S. 1891.
7) Ebendaselbst.
8) Oesterr.-ung. Zeitschrift für Zuckerindustrie und Landwirtschaft. 1893. p. 827.
9) Zeitschrift für Zuckerindustrie in Böhmen. 1892. p. 239.
10) " " " " " 1893. p. 157.
11) " " " " " 1893. p. 281.
12) " " " " " 1894. p. 617.
13) Blätter für Zuckerrübenbau. 1894. p. 303.

Referate.

Migula, W., Ueber ein neues System der Bakterien. (Arb. des Bakteriol. Instit. der Großhrzgl. Hochschule zu Karlsruhe. 1895. Heft 2.)

Die Abhandlung giebt nur die Diagnosen der Familien und Gattungen ohne weitere Ausführungen.

I. Fam. Coccaceae Zopf em. Mig.

Zellen im freien Zustande kugelig. Teilung nach ein, zwei oder drei Richtungen des Raumes. Endosporenbildung selten.

Bewegungsorgane fehlen	Zellen sich nach einer Richtung teilend	1) Streptococcus (Billr.) Zopf
	Zellen sich nach zwei Richtungen teilend	2) Micrococcus Cohn
	Zellen sich nach drei Richtungen teilend	3) Sarcina Goods.
Bewegungsorgane geißelförmig	Zellen sich nach zwei Richtungen teilend	4) Planococcus n. g.
	Zellen sich nach drei Richtungen teilend	5) Planosarcina n. g.

II. Fam. Bacteriaceae Zopf em. Mig.

Zellen länger oder kürzer cylindrisch, gerade, niemals schraubig gekrümmt; Teilung nur nach einer Richtung nach voraufgegangener Längsstreckung des Stäbchens.

Bewegungsorgane fehlen	6) Bacterium Cohn

Bewegungsorgane geißelförmig	über den ganzen Körper angeheftet	7) Bacillus Cohn
	polar	8) Pseudomonas n. g.

III. Fam. Spirillaceae Mig.

Zellen schraubig gewunden oder Teile eines Schraubenganges darstellend. Teilung nur nach einer Richtung nach voraufgegangener Längsstreckung.

Zellen starr	Bewegungsorgane fehlen	9) Spirosoma n. g.
	Bewegungsorgane polar, ein, selten 2—3	10) Microspira Schroet. em. Mig.
	Bewegungsorgane zu 5—20 in polaren Büscheln	11) Spirillum Ehrenbg.
Zellen schlangenartig biegsam. Bewegungsorgane unbekannt (undulierende Membran?)		12) Spirochaete Ehrenbg.

IV. Fam. Chlamydobacteriaceae n. f.

Formen von sehr verschiedener Entwickelungsstufe, aber alle ausgezeichnet durch eine feste Hülle oder Scheide, welche die zu verzweigten oder unverzweigten Fäden vereinigten Zellen umgiebt.

Zellen ohne Schwefelkörner	Teilung der Zellen nur nach einer Richtung	Fäden unverzweigt	13) Streptothrix Cohn
		Fäden pseudodichotom verzweigt. Vegetative Fortpflanzung durch polar begeißelte Schwärmzellen	14) Cladothrix Cohn (inkl. Sphaerotilus und Actinomyces)
	Teilung der Zellen nach allen drei Richtungen	Zellen anfangs nur in einer Richtung sich teilend, später nach drei Richtungen; die Teilungsprodukte runden sich ab und werden zu Fortpflanzungszellen	15) Crenothrix Cohn
		Fäden anfangs unverzeigt, einen Zellenstrang darstellend. Einzelne Zellen können die feine, eng anliegende Scheide durchwachsen und Verzweigungen veranlassen	16) Phragmidiothrix Engl.
Zellen mit Schwefelkörnern. Fäden unverzweigt. Teilung nach einer Richtung			17) Thiothrix Winogr.

Anhang. V. Fam. Beggiatoaceae.

Fäden scheidenlos; Teilung nach einer Richtung. Bewegung durch undulierende Membran.

Gatt. Beggiatoa Trev. Zellen mit Schwefelkörnchen.

Migula möchte diese Familie ihrer Aehnlichkeit mit Oscillarien wegen zu den Schizophyceen gestellt wissen. Lindau (Berlin).

Wortmann, Julius, Untersuchungen über reine Hefen. Teil II. (Landw. Jahrbücher. 1894. p. 535.)

In seiner vorhergehenden, auf p. 757 des XIII. Bandes des Centralblattes für Bakteriologie berichteten Veröffentlichung hat der Verf. nachgewiesen, daß es verschiedene Rassen von Weinhefen (von Saccharomyces ellipsoideus) giebt, von denen jede einen gegebenen Most auf die ihr eigentümliche Art zersetzt. Bevor man nun sich entschließt, der Praxis zu empfehlen, ihre Moste durch Reinkulturen der einen oder der anderen dieser Rassen zu vergären, ist noch nötig, sich zu vergewissern, daß die bemerkten Unterschiede in verschiedenem Gärmateriale unverändert zum Ausdrucke kommen, daß also einer bestimmten Rasse gewisse, praktisch bedeutsame Eigenschaften dauernd nachgesagt werden können. Diese Frage findet nun in der im Nachstehenden zu besprechenden Arbeit des Verf.'s ihre Beantwortung, und zwar im bejahenden Sinne.

Der Versuchsplan war der folgende: Eine Anzahl von Mostproben verschiedener Herkunft wurde mit ein und derselben Hefenrasse vergoren, um zu erfahren, inwieweit der Charakter derselben durch die Art der Zusammensetzung des Nährbodens beeinflußt wird. Für eine zweite und dritte Parallelreihe von Proben der gleichen Moste wurden zwei andere Rassen benutzt, um zu erforschen, ob jede derselben, in verschiedenen Nährböden gezüchtet, die einzelnen Gärprodukte in einem ihr eigentümlichen Verhältnisse hervorbringt.

Es kamen 41 Mostsorten zur Verwendung. Sie waren sofort nach dem Keltern an Ort und Stelle sterilisiert worden. Von diesen stammten 3 aus dem Oberelsaß, 5 aus dem Moselgebiete, 4 aus dem Ahrethale, 2 aus dem Nahethale, 3 aus Rheinhessen, 8 aus der Rheinpfalz, 12 aus dem Rheingaue und 4 aus Unterfranken (Würzburg). Nachdem man dieselben zuvor auf ihre Zusammensetzung hin chemisch untersucht hatte, wurde davon je ein Liter mit einer Million Zellen von Johannisberger Hefe versetzt, je ein zweites Liter erhielt ebensoviel Hefe vom Würzburger Stein und der meist noch ein Liter betragende Rest der Proben endlich bekam eine entsprechende Menge von Ahrweiler Hefe. Diese genannten drei Rassen waren, nach früher gemachten Erfahrungen, als von einander verschieden anzusehen. —

Welches sind nun die Ergebnisse der chemischen Untersuchung der derart erhaltenen Weine?

Die Prüfung auf den Gehalt an Hefezellen führte zu der Folgerung, daß die in einem gegebenen Moste erzielbare Hefenernte abhängig ist von der spezifischen Vermehrungsfähigkeit

der betr. Hefenrasse, daß hingegen die Herkunft des Mostes darauf ohne Einfluß ist.

Die Bestimmung des Extraktgehaltes der Weine lieferte ein im wesentlichen gleiches Ergebnis, das sich kurz so ausdrücken läßt: Stets den gleichen Most im Auge behaltend, kann in Hinsicht auf Extraktverbrauch die Würzburger Hefe als die bescheidenste, die Ahrweiler hingegen als die anspruchsvollste der verglichenen drei Rassen erklärt werden.

Noch auffälliger kommt die Verschiedenheit dieser drei Rassen in dem Gehalte der Weine an Glycerin zum Ausdrucke. Gleichgiltig, welchen der 41 Moste man betrachtet, in jedem derselben hat die Würzburger Hefe verhältnismäßig die höchste, die Ahrweiler die geringste Menge davon geliefert. Eine Vergleichung der dafür gefundenen Zahlen mit den entsprechenden Beträgen der Hefenernte zeigt, daß gerade bei derjenigen Rasse (Würzburg), welche die Höchstmenge an Glycerin gebildet hat, die schwächste Vermehrung eingetreten ist, und daß andererseits die Ahrweiler Hefe, welche die niederste Ausbeute an Glycerin geliefert hat, hinsichtlich der Zellvermehrung als die eifrigste sich erwiesen hat. Es ist somit die in einem gegebenen Moste entstehende Menge von Glycerin abhängig von der Art der die Gärung durchführenden Hefenrasse.

Betreffs des Gehaltes der Weine an Asche, an Stickstoff und an Säure kam der Verf. zu wesentlich den gleichen Folgerungen.

Auch hinsichtlich ihrer Empfindlichkeit gegenüber einem bestimmten Gehalte der Nährlösung an Alkohol erwiesen sich die der Vergleichung unterzogenen drei Rassen verschieden. Diese Thatsache macht es auch erklärlich, weshalb in den Befunden für den Gehalt der Weine an Alkohol die Eigentümlichkeit der einzelnen Rassen nicht so deutlich zum Ausdrucke kommt; so z. B. bei Hefe Johannisberg, welche an und für sich sehr gärkräftig ist, die jedoch ihre zuckerspaltende Thätigkeit bei einem Alkoholgehalte einstellt, der andere Rassen (z. B. die Würzburger) noch nicht zu stören vermag.

Wie schon eingangs angekündigt, hatte der Verf. seinen Versuchen noch ein zweites Ziel gesteckt, und zwar nachzuforschen, ob das Gewichtsverhältnis der Gärprodukte für jede Hefenrasse ein eigentümliches ist.

Das wichtigste dieser Verhältnisse ist jenes, welches die Mengen von Alkohol und Glycerin betrifft. Zufolge Pasteur's Gärungsgleichung sollen auf je 100 Teile Alkohol 10 Teile Glycerin gebildet werden. Dieses Mengenverhältnis ist von den Oenochemikern lange Zeit als feststehende Norm betrachtet und jenen Begutachtungen zu Grunde gelegt worden, welche Weine betrafen, welche auf etwaige Verfälschung (Zusatz von Alkohol oder von Glycerin) zu prüfen waren. Spätere Untersuchungen haben dann gezeigt, daß dieses Verhältnis von 10 : 1 auch in sicheren Naturweinen manchmal nicht erreicht, manchmal wieder überschritten worden ist. Auf reine Gärungen, d. h. auf solche, die mit Reinkulturen von Hefen durchgeführt worden waren, stützen sich jedoch auch diese Gegenbeweise nicht.

Dies hat nun der Verf. gethan und er ist dabei zu dem Schlusse gelangt,* daß es keinen Sinn hat, ein bestimmtes Mengenverhältnis

zwischen Alkohol und Glycerin als maßgebend hinzustellen, denn dasselbe ist unberechenbaren Schwankungen unterworfen.

Lafar (Hohenheim bei Stuttgart).

Aderhold, Rud., Untersuchungen über reine Hefen. Teil III: Die Morphologie der deutschen S. ellipsoideus-Arten. (Landw. Jahrbücher. 1894. p. 587—620.)

An einer Morphologie unserer einheimischen Weinhefen hat es bisher gefehlt. Ueber diejenigen Frankreichs hat uns die Arbeit von L. Marx[1]) die ersten auf Reinkulturen sich stützenden Aufschlüsse gebracht, denen durch E. Kayser's[2]) Studien über die Apfelweingärung in mancher Hinsicht eine Ergänzung zu teil geworden ist. Diesen Untersuchungen reiht sich die nun zu besprechende an. Sie hat ausschließlich die Morphologie im Auge; die Physiologie der betr. Hefen, insbesondere deren Gärthätigkeit, hat sowohl in der vorstehenden wie auch in einer vorgängigen Veröffentlichung von Jul. Wortmann eine mehrseitige Beleuchtung erfahren.

Bevor wir auf das Hauptthema, die Beschreibung von Gestalt, Wuchs und Vermehrsorganen der behandelten Hefenrassen eingehen, wird es nützlich sein, noch einen Blick nach der Herkunft und der Art der Gewinnung derselben zu thun. — Wenn man den jungen Wein, nachdem die spontane Gärung beendigt ist, vorsichtig abzieht, dann verbleibt auf dem Boden des Fasses ein schmutzig-gelber oder roter Schlamm zurück, den der Praktiker als Trub bezeichnet und welcher der Hauptmenge nach aus Hefe besteht, daneben findet sich Weinstein u. a. m.

In den zahlreichen, der Untersuchung unterworfenen deutschen Trubs kam weitaus der Mehrheit der vorhandenen Hefezellen eine runde oder elliptische Gestalt zu. Zwei- oder mehrgliederige Sproßverbände wurden selten bemerkt. Neben diesen, dem Formentypus S. ellipsoideus entsprechenden Zellen fanden sich — manchmal häufig, manchmal jedoch fehlend — auch solche vor, die mit beiderseitig zugespitzten Enden versehen waren und dem S. apiculatus angehören. Endlich fehlten nur selten wurstförmiggestreckte Zellen, wenngleich auch diese der Zahl nach sehr zurücktraten gegenüber den zuerst bezeichneten Formen. In dieser Hinsicht verschieden erwiesen sich die vom Verf. untersuchten Trubs von Weinen aus Frankreich, Italien und der Krim, denn in diesen fanden sich verhältnismäßig bedeutend mehr langgestreckte Hefezellen, deren Anzahl wurde in Bordeauxweinen als nahezu gleich befunden derjenigen der runden oder ovoidischen Zellen. Als frei von Bakterien konnte keiner der untersuchten Trubs erklärt werden, jedoch es war der Gehalt daran, insofern man nur die normalen, aus gesunden Weinen stammenden Proben berücksichtigt, ein mäßiger, der meist unter 5 Proz. verblieb. Neben dem nie fehlenden Essigsäurebakterium fielen dem Verf. zwei Arten kleiner Diplokokken auf, von denen die eine in jedem der

1) Vergl. das Referat auf p. 313 des V. Bandes (von 1889) des Centralblattes für Bakteriologie.

2) Desgl. Bd. VIII. 1890. p. 726.

daraufhin geprüften Weine sich vorfand. Meistens waren sie alle beide vorhanden. Auch an stäbchenförmigen Spaltpilzen war in vielen Fällen kein Mangel. Endlich muß noch, um das Bild der Flora vollständig zu machen, der Gegenwart der Sporen höherer Pilze gedacht werden, von denen die der Botrytis cinerea, des Penicillium und des Dematium pullulans in den Trubs der Rheinweine häufig zu treffen waren.

Das eben geschilderte Ausgangsmaterial ließ man erst durch Umgären in Most sich auffrischen, bevor man daran ging, daraus, auf dem Wege der Einzell-Kultur, eine oder mehrere Rassen heranzuzüchten. Als fester Nährboden kam Mostgelatine zur Verwendung, welche durch Zusatz von Kalilauge fast neutral gemacht worden war. Der Verf. gewann so an dreißig ausnahmslos untergärige Rassen, alle dem Typus S. ellipsoideus angehörig. Mit jeder derselben wurden Kulturversuche, vorerst in Most, angestellt und die dabei auftretenden Zellgestalten studiert.

In der Bodensatzhefe überwogen bei den meisten derselben sehr stark die runden und breit-elliptischen oder breit-ovalen Zellen. Nur diejenigen vom Würzburger Stein und vom Hattenheimer Steinberg zeigten vorherrschend länglich-ovale Gestalten. Gestreckte oder wurstförmige Individuen fehlten hingegen sogar in alten Bodensätzen ausnahmslos. Diese deutschen Rassen unterscheiden sich schon dadurch von den von Marx untersuchten französischen, welchen, der Beschreibung zufolge, regelmäßig eine mehr gestreckt-elliptische Gestalt zukommt. — Einige Unterschiede fand der Verf. auch hinsichtlich der Größe der Zellen: diejenigen der Hefe Schloß Johannisberg hatten eine Länge von 7—10 μ, bei einer Breite von 5,7 μ, während für eine Müllheimer die Zahlen 6—8 und 4,5—6,5 μ gefunden wurden.

Auch was die Hautbildung betrifft, weichen die einzelnen Rassen von einander ab. Nur bei denen von Walporzheim und von Würzburg war sie einigermaßen kräftig, jedoch es kam auch bei diesen nicht zu einer zusammenhängenden Hautdecke, sondern nur zur Entstehung einzelner Inseln. Der Wein wurde hierbei allmählich entfärbt. — Die Gestalten der die Häute oder Hautinseln aufbauenden Zellen waren mannigfaltige: Sie ließen zwei Haupttypen unterscheiden, zwischen denen Uebergangsformen jedoch nicht fehlten. Dem durch Hefe Walporzheim vertretenen Typus kamen gestreckte Hautzellen zu, hingegen lieferte der andere Typus, für den Hefe Pisport ein Beispiel ist, Sproßverbände mit ausschließlich ovoidischen Gliedern.

Die Bildung endogener Sporen konnte bei den in Rede stehenden Rassen ausnahmslos leicht hervorgerufen werden. Bei einigen erfolgte sie ohne weitere Vorbehandlung in den Zellen der Häute, so z. B. bei Hefe Walporzheim. — Die von Hansen diesbezüglich gemachten Erfahrungen berücksichtigend, hat der Verf. für jede seiner Rassen einige Punkte der Temperatur-Zeit-Kurve ermittelt und ist so zu dem Ergebnisse gelangt, daß diese deutschen Weinhefen, um Sporenbildung erkennen zu lassen, eine längere Zeitdauer beanspruchten, als sie Marx für seine französischen Arten

festgestellt hat. Der Verf. sucht die Erklärung für diesen abweichenden Befund in der Verschiedenheit der Züchtungsbedingungen: der französische Forscher hatte für seine Kulturen Bierwürze anstatt Weinmost benutzt. Die Versuche, welche der Verf. zur Stützung seiner Ansicht vorgenommen hat, sind ein sehr lehrreicher Beitrag zur Methodik der Sporenkultur, denn sie haben hinsichtlich der Weinhefen zu demselben Satze geführt, den Hansen schon vor Jahren für die von ihm untersuchten Saccharomyceten festgestellt hat: daß die Zeitdauer, binnen welcher eine bestimmte Hefenrasse bei einer bestimmten Temperatur Sporenbildung aufweist, abhängig ist von der Art der Heranzüchtung der Zellen. Es kommt hierbei sowohl die Güte des dazu verwendeten Nährbodens, als auch die Dauer der Herführung in Betracht, wie die folgenden Beispiele zeigen. Das erste derselben betrifft eine Hefe aus Walporzheim. Diese wies, wenn in stickstoffreichem Geisenheimer Moste herangezüchtet, bei 24—25° C gehalten, nach 48 Stunden Sporenbildung auf. Hingegen in stickstoffarmem sicilianischem Moste hergeführt, bedurfte es unter sonst gleichen Bedingungen 80 Stunden. — Beließ man die Zellen von Hefe Müllheim, bevor man sie auf den Gipsblock brachte, 24 Stunden in der letztgenannten Flüssigkeit, so trat dann bei 25—26° C die Sporenbildung binnen 2—3 Tagen ein; hingegen konnte sie, wenn die Anzüchtung 33 Stunden gewährt hatte, selbst nach Ablauf von 6 Tagen noch nicht bemerkt werden. — Als Gegenstück sei die Hefe aus Ungstein namhaft gemacht, welche unter jener Bedingung nach 46 Stunden unter dieser nach 44 Stunden, also annähernd gleichzeitig, Sporenbildung erkennen ließ. Die Empfindlichkeit der einzelnen Rassen ist somit auch in dieser Hinsicht verschieden groß.

Die Wuchsart in Riesenkolonieen hat der Verf. ebenfalls betrachtet und er hat erkannt, daß deren Aufbau in vielen Punkten dem der Häute ähnelt. So fand er auch hier die Mehrzahl der Zellen sporenbildend, und zwar waren es nicht bloß die an der Oberfläche gelegenen. In den tiefsten Schichten der Kolonie traf er häufig wurstförmige Zellen, die bei manchen Rassen zu vielgliederigen Sproßverbänden vereinigt waren. Lafar (Hohenheim bei Stuttgart).

Yabe, K. Nogakushi, On the poisonous action of the hydroxyl-derivatives of benzol upon yeast and bacteria. (Imperial university. College of Agriculture. Bullet. Vol. II. No. 2. Tokyo 1894. p. 73—75.)

Die giftige Wirkung des Phenols, Dioxybenzols (Resorcin, Pyrokatechin und Hydrochinon) und des Trioxybenzols (Phloroglucin, Pyrogallol) auf Tiere ist nachgewiesen, aber noch nicht ist deren Verhalten zu niederen Pilzen aufgeklärt. Im allgemeinen hat sich die Regel herausgestellt, daß der giftige Charakter mit der Zahl der Hydroxylgruppen im Benzolringe wächst. Phloroglucin ist giftiger für Frösche als Resorcin und dieses wieder giftiger als Phenol. Pyrokatechin übertrifft an toxischer Wirkung Hydrochinon, dieses Resorcin. Phloroglucin ist weniger giftig als Pyrogallol. Aehnliche Differenzen machen sich geltend bei der Einwirkung dieser Verbindungen auf Algen, wie näher ausgeführt wird. Dasselbe ist der Fall in Be-

zug auf Hefe und Bakterien, wie die Untersuchungen des Verf.'s darlegen. Die Alkoholgärung wird verhindert durch Lösungen folgender Konzentration: Phenol 1 : 200, Resorcin 1 : 100, Pyrogallol 1 : 50. Aequivalente Mengen verschiedener Phenole ergaben folgendes Resultat: Phenol 0,5 Proz. und 0,4 Proz. k (k = keine Gärung, g = Gärung), Pyrokatechin 0,585 k, 0,468 schwache Gärung, Resorcin 0,585 g, Hydrochinon 0,585 g, Pyrogallol 0,670 g, Phloroglucin 0,670 g. In einer zweiten Versuchsreihe wurde Hefe mit diesen Phenolen geschüttelt und 70 Stunden stehen gelassen, sodann in Pasteurlösung übergeführt. Phenol 0,3 Proz. g, Pyrokatechin 0,351 g, Resorcin 0,351 g, Hydrochinon 0,351 g, Pyrogallol 0,402 g, Phloroglucin 0,402 g. Dieselben Substanzen in gleicher Reihenfolge 0,4 Proz. k, 0,468 schwache g., 0,468 g, 0,468 g, 0,536 g, 0,536 g und ebenso: 0,45 Proz. k, 0,527 k, 0,527 g, 0,527 schw. g., 0,527 schw. G., 0,603 g.

Dasselbe Experiment wurde mit äquimolekularen Lösungen und Bakterien angestellt. Resultat: Phenol, 0,4 Proz. k, Pyrokatechin 0,468 k, Resorcin 0,468 e, Hydrochinon 0,468 k, Pyrogallol 0,536 e, Phloroglucin 0,536 e, wobei g keine Entwickelung, e Entwickelung bedeutet. Hier macht sich eine Ausnahme von der Regel bemerkbar, die höher hydroxylierten Benzole sind niederen Pilzen gegenüber weniger giftig als Phenol, für welches exceptionelle Verhalten weitere Untersuchungen die wissenschaftliche Erklärung bringen müssen. F. G. Kohl (Marburg).

Yabe, K. Nogakushi, On the vegetable cheese, Natto. (Imperial University. College of Agriculture. Bull. Vol. II. No. 2. Tokyo 1894. p. 68—72.)

In Japan bereitet man aus Sojabohnen einen „Natto" genannten vegetabilischen Käse, indem man die Bohnen fünf Stunden lang kocht, in Portionen formt und in einem gut verschlossenen, durch ein Feuer geheizten Keller 24 Stunden sich selbst überläßt. Nach Verlauf dieser Zeit ist das Produkt zum Verbrauche fertig. Y. sucht zunächst die Bakterien des Natto zu ermitteln, welche entweder aus der Luft oder aus dem zum Einhüllen der Portionen benutzten Stroh oder, was jedoch nicht wahrscheinlich ist, aus den Bohnen selbst stammen. Vier verschiedene Mikrobenformen wurden durch Plattenkulturen konstatiert, drei Mikrokokken und ein kleiner, unbeweglicher, Gelatine verflüssigender und grünliche Fluorescenz hervorrufender Bacillus. Die Mikrokokkenkolonieen unterscheiden sich durch ihre gelbe, orangerote oder weiße Farbe. Das differente Verhalten aller drei Kokken wird genauer geschildert. Wiederholte Versuche und der eigentümliche Geruch des Natto veranlassen Y., in dem gelben Coccus den spezifischen Nattomikroben zu vermuten. Die chemische Untersuchung des Natto ergab neben anderen unwichtigen Substanzen Tyrosin, Peptone, Guanin, Xanthin, welche Stoffe zum größten Teile Produkte der Lebensthätigkeit der Bakterien sein mögen; Natto ist leichter verdaulich als die Sojabohnen, weil er weicher und reicher an Peptonen ist, als diese. In Bezug auf die verschiedene Verteilung des Stickstoffs in beiden Substanzen sind folgende Zahlen aufschlußgebend:

	Sojabohne	Natto
Totalstickstoff	7,355 Proz.	7,542 Proz.
Stickstoff des Eiweißes (exkl. Peptone)	6,899 „	4,033 „
Stickstoff der Amide	0,128 „	1,892 „
Stickstoff der Peptone	0,328 „	1,617 „

F. G. Kohl (Marburg).

Corrigendum.

In No. 7/8 der II. Abt. p. 298 ist auf Zeile 18 von unten zu lesen „Traubenkämme" anstatt Traubenkörner.

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

DR. WILHELM WINDISCH.

Allgemeines über Bakterien und andere Mikroorganismen.

Arbeiten aus dem bakteriologischen Institut der technischen Hochschule zu Karlsruhe. Hrsg. von L. Klein und W. Migula. Bd. I. 1895. Heft 2. p. 149—238 mit Abbildgn. u. 2 Taf. gr. 8°. Karlsruhe (Otto Nemnich) 1895. 6 M.

Stiles, Ch. Wardell, Notes on parasites. XXXVI. (Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. I. Abt. Bd. XVII. 1895. No. 13/14. p. 457.)

Systematik, Morphologie und Biologie der Bakterien und anderer Mikroorganismen.

Kedrowski, V. J., Ueber die Buttersäure erzeugenden anaëroben Bakterien. (Wratsch. 1894. p. 958.) [Russisch.]

Sanfelice, F., Contribution à la morphologie à la biologie des blastomycètes qui se développent dans les sucs de divers fruits. (Annales de micrographie. 1895. No. 10, 11. p. 505—519, 553—578.)

Allgemeine Gärungsphysiologie.

Lindner, P., Mikroskopische Betriebskontrolle in den Gärungsgewerben m. e. Einführung in die Hefenreinkultur, Infektionslehre und Hefenkunde. Für Studierende und Praktiker bearbeitet. gr. 8°. Berlin (Paul Parey) 1895. 12 M.

Prior, E., Ueber die Menge und Natur der beim Mähen der Gerste, Darren und Maischen des Malzes und Kochen der Würze gebildeten Säuren. (Bayer. Brauerjourn. Jahrg. V. 1895. No. 16. p. 181.)

Molkerei.

Bolsom, The souring of cream. (Ind. Lait. Bd. XIX. 1894. No. 46. p. 705—706.)

Christensen, Die Säuerung des Rahmes. (Milchztg. Jahrg. XXIV. 1895. No. 16. p. 251.)

Brauerei.

Hansen, E. Chr., Ueber künstliche und natürliche Hefenreinzucht. (Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen. Neue Folge Jahrg. XVIII. 1895. No. 14. p. 113.)

Henius, Louis, Populäre Vorlesungen über Reinhefe. (American Brewers Review. Vol. VIII. 1895. No. 39. p. 449.)

Lindner, P., Die Weinsäurekur für sarcinahaltige Zeuge. (Wochenschr. f. Brauerei. Jahrg. XII. 1895. No. 14. p. 316.)

Morris, G. H., Analysis of Beer, with Remark on the unfermentable reducing residue. (Journ. of the federated Instit. of Brewing. Vol. I. 1895. No. 2.)

Preßhefefabrikation.

Dejonghe, Gaston, Fabrication de l'aérolévure pressée. (Journ. de la Distillerie française. Année XII. 1895. No. 567. p. 177.)

Nahrungs- und Genußmittel, Konserven etc.

Niven, J., An occurrence of milk infection. (Lancet. Vol. I. 1895. No. 3. p. 146—148.)

Wasser.

Burri, R., Nachweis von Fäkalbakterien im Trinkwasser. (Hygien. Rundschau. 1895. No. 2. p. 49—54.)
Marchand, E., De la contamination des mares et des sources. (Annales d'hygiène publ. Vol. II. 1895. No. 6. p. 499—517.)
Migula, W., Methode und Aufgabe der biologischen Wasseruntersuchung. (56.—60. Jahresbericht d. Ver. f. Naturkunde zu Mannheim. 1894. p. 1—59.)
Rio, A. del, Ueber einige Arten von Wasserbakterien, die auf der Gelatineplatte typhusähnliches Wachstum zeigen. (Arch. f. Hygiene. Jahrg. XXII. 1895. p. 91—101.)

Durch Parasiten verursachte Krankheiten der Pflanzen.

Atkinson, G. F., The Exoasceae on stone fruits. (Garden and Forest. Jahrg. VII. 1894. p. 463—464.)
— —, Leaf curl and plum pockets. (New York Cornell Sta. 1894. Bull. 73. pls. 20. p. 319—355.)
Beckwith, M. H., Salt Water as a preventive of peach yellows. (Garden and Forest. Jahrg. VII. 1894. p. 448—449.)
Bedford, S. A., Copper sulphate as a smut preventive. (Canada Exptl. Farms. 1893. p. 237—238.)
Blair, W. M., Bordeaux mixture for the prevention of potato rot. (Canada Exptl. Farms. 1893. p. 222.)
Cane disease in South Queensland. (Sugar. Jahrg. VII [1894]. No. 2. p. 25.)
Cobb, N. A., Contributions to an economic knowledge of Australian rusts. (Dept. Agr. N. S. W. Misc. 1894. Pub. 18. p. 14. figs. 4.)
Craig, J., Pear and apple blight. (Canada Exptl. Farms Rpt. 1893. p. 88—95.)
— —, Spraying experiments. (Canada Exptl. Farms Rpt. 1893. p. 100—101.)
— —, Effect of dilute sulphuric acid on foliage. (Canada Exptl. Farms Rpt. 1893. p. 101—102.)
Despeissis, J. A., The Oidium on grapes. (Agl. Gaz. N. S. W. Jahrg. V. [1894]. No. 10. p. 701—702.)
Eloste, P., Aureobasidium vitis, a disease of the grape vine. (Journ. agricult. Prat. Jahrg. LVIII. 1894. No. 39. p. 461, 462.)
Fawcett, W., Sugar-cane disease. (Bul. Bot. Dept. Jamaica. Jahrg. I [1894]. No. 7. p. 111.)
Germain, Mildew in vineyards. (U. S. Consular Rpt. 1894. p. 140.)
Halstead, B. D.. A serious blight of Cosmos. (Garden and Forest. Jahrg. VII. 1894. p. 464. With 2 fig.)
Injurious fungi and insects. (Journ. [British]. Vol. Agr. I [1894]. No. 2. p. 199—217.)
Investigations upon cane pests. (Rpt. Exptl. Fields, Dodds Reformatory, Barbados 1893. p. 44—50.)
Karlson, Emil, Der Rübenwurzelbrand. (Zeitschr. d. Vereins f. d. Rübenzucker-Industrie d. Deutsch. Reiches. 1895. Lfg. 471. Aprilheft. p. 434.)
Krüger, Friedrich, Ueber ein neuerdings auftretendes, durch den Samen übertragbares Mißraten der Erbsen. (Dtsche landwirtschaftl. Presse. Jahrg. XXII. 1895. No. 33. p. 311.)
Lodeman, E. G., Spraying apple orchards in a wet season. (New York Cornell Sta. Rpt. 1894. p. 357—393.)
— —, Bordeaux mixture and the potassium ferrocyanid test. (Garden and Forest. Jahrg. VII. 1894. p. 456—457.)
Mangel and beet rust (Uromyces betae). (Sugar. Jahrg. VII [1894]. No. 2. p. 17.)
Panton, J. H., Remedies for common plant and insect foes. (Ontario Agl. Col. and Exptl. Farm. Rpt. 1893. p. 22—27.)
Pierce, N. B., Prune rust. (Journ. of Mycology. Vol. VII. 1895. No. 4. p. 354—363.)
Piper, C. V., Common fungus diseases and methods of prevention. (Washington Sta. Bul. 8. 1895. p. 131—141.)
Rolfs, P. H., Insecticides and Fungicides. (Florida St. Bull. 23. 1895. p. 36.)
Saunders, W., Smut in wheat. (Canada Exptl. Farms Rpt. 1893. p. 41.)
— —, Spraying for rust. (Ibid. p. 33.)
Sharpe, T. A., Bordeaux Mixture for potato rot. (Canada Exptl. Farms Rpt. 1893. p. 336.)

Smith, E. F., Field notes for 1892. (Journ. of Mycology. Vol. VII. 1895. No. 4. p. 373—377.)
The treatment of diseased sugar canes in the West Indies. (Proceed. Leeward Islands Agl. and Commercial Soc. 1894. Aug. 3. p. 8.)
Toumey, J. W., Crown knot. (Arizona Sta. Bull. 1. 1895. 2nd Ser. p. 11.)
Williams, T. A., Notes on fungi. (South Dakota Sta. Rpt. 1892. p. 24.)

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Bunge, R., Weitere Mitteilungen über Geißelfärbung. (Fortschr. d. Med. 1894. No. 24. p. 929—931.)
Hest, J. J. van, Zur bakteriologischen Technik. (Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. I. Abt. Bd. XVII. 1895. No. 13/14. p. 462.)
— —, Ein veränderter Papin'scher Topf. (loc. cit. p. 463.)
Nastiukoff, Ueber Nährböden aus Eigelb für Bakterienkulturen. (Wratsch. 1893. No. 33 u. 34.)
Schmidt, Ad., Eine einfache Methode zur Züchtung anaërober Kulturen in flüssigen Nährböden. (Centralbl. f. Bakt. u Parasitenk. I. Abt. Bd. XVII. 1895. No. 13/14. p. 460.)

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien.

Cambier, R. und Brochet, A., Sur la désinfection des chambres par l'aldehyde formique gazeuse. (Revue d'Hygiène. 1895. No. 17. p. 120.)
Capella, L., Ricerche sul saprolo. (Bullett. d. r. accad. med. di Roma. 1894. fasc. 7. p. 790—827.)
Chicote, César, Desinfectantes y Desinfeccion. 84 p. San Sebastian (Establecimiente tipografico de F. Jomet) 1894.
Copper sulphate and potatoes. (Gard. Chron. Jahrg. XVI (1894). Ser. 3. p. 697.)
Christen, Untersuchungen über die Dauer des Sterilisationsprozesses in gespanntem Dampfe bei gegebenen fixen Temperaturen. (Krrspdzbl. f. Schweiz. Aerzte. 1895. No. 14. p. 446.)
Diakonow, N. W., Apparate für kalte Sterilisation von Flüssigkeiten und zum Filtrieren von Nähragar und Nährgelatine. 8°. 15 p. Mit 15 Holzschn. Petersburg 1894. [Russisch.]
Jones, L. R., The Ferrocyanid test for Bordeaux mixture. (Garden and Forest. Vol. VII. 1894. p. 497.)
Lodeman, E. G., Spraying for black knot of cherries and plums. (Garden and Forest. Vol. VII. 1894. p. 508—509.)
Mills, A. A, Treatment for oat smut. (Utah Sta. Rpt. 1893. p. 225—228.)
Moreno, E., Sul potere desinfettante dei vapori di ammoniaca. (La Rif. med. 1894. No. 164.)
Oehmichen, Beiträge zur Desinfektionslehre. (Arb. a. d. kaiserl. Gesundheits-A. Bd. XI. 1895. p. 274—284.)
Philipp, G., Ueber die Desinfektion von Wohnräumen durch Formaldehyd. (Münch. med. Wchschr. 1894. p. 926.)
Windisch, W., Ueber die Sterilisierung von Räumen mittels gasförmigem Formaldehyd. (Wchschr. f. Brauerei. Jahrg. XII. 1895. No. 15. p. 453.)

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie und Parasitenkunde.

Zweite Abteilung:

Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie und Pflanzenpathologie.

In Verbindung mit

Prof. Dr. **Adametz** in Krakau, Dr. W. M. **Beyerinck** in Delft,, Prof. Dr. A. B. **Frank** in Berlin, Dr. v. **Freudenreich** in Bern, Prof. Dr. **Emil Chr. Hansen** in Kopenhagen, Dr. **Lindner** in Berlin, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Prof. Dr. **Stutzer** in Bonn, Privatdocent Dr. **Wehmer** in Hannover, Dr. **Weigmann** in Kiel, Dr. **Wilfarth** in Bernburg und Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg

herausgegeben von

Dr. O. Uhlworm in Cassel.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

I. Band. Jena, den 5. Juni 1895. **No. 12.**

Preis für den Band (26 Nummern) 16 Mark.

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde" richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige ***Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.***

Original-Mittheilungen.

Verhalten des Bacillus mesentericus vulgatus bei höheren Temperaturen.

Von

Dr. **A. Wróblewski,**

Assist. am I. chem. Laboratorium der Univ. Krakau.

Es ist wohl bekannt, daß die Sporenbildung bei den Spaltpilzen oft erst dann aufzutreten pflegt, wenn die vegetative Entwickelung gehemmt wird und die für die Lebensprozesse ungünstigen Bedingungen

eintreten; so hat Buchner[1]) bewiesen, daß „der eintretende Mangel an Ernährungsmaterial die Bildung der Sporen veranlaßt". Es ist auch sehr wahrscheinlich, daß die allmähliche Temperaturerhöhung in derselben Richtung wirkt.

In einer vor kurzem im Centralblatte referierten Arbeit von A. Dieudonné[2]) ist nachgewiesen worden, daß bei langsamer Temperaturerhöhung die obere Grenze der vegetativen Vermehrung weithin verschoben wird, daß die Bakterien sich diesen ungünstigen Temperaturen anpassen können, wenn dieselben langsam eintreten.

Haben sich einmal in dem zur Sterilisation bestimmten Medium Sporen gebildet, so sind dieselben schwer fortzubringen. Sporen von vielen Bakterienarten ertragen eine längere Erwärmung auch im flüssigen Medium von über 100° C; so ertragen z. B. die Sporen des Bacillus subtilis ein $2^1/_2$-stündiges Erhitzen bis 100° C[3]). Die Sporen des Bacillus mesentericus vulgatus ertragen ein dreistündiges Erwärmen bis 100° C; die letzteren wurden auf ihr Verhalten bei der Sterilisation von E. Strub genau geprüft[4]).

In der Praxis wird bei der Sterilisation gewöhnlich eine langsame, $^1/_4$ Stunde und länger dauernde Vorerwärmung angewendet, die die Sporenbildung befördern könnte.

Es schien mir deshalb der Mühe wert, diese Vorgänge bei irgend einer sporenbildenden Art zu prüfen.

Als Versuchsobjekt wurde, dank dem freundlichen Rate des Prof. Dr. L. Adametz, der Bacillus mesentericus vulgatus gewählt. Obgleich E. Strub schon mit demselben mehrere Versuche angestellt hat, bringen nichtsdestoweniger die im Folgenden beschriebenen Versuche manches Neue.

Ich habe zuerst das Verhalten von Bac. mes. bei niedrigen Temperaturen geprüft und vor allem den Einfluß der plötzlichen Temperaturerniedrigung auf diese Pilzart studiert, da bis jetzt fast keine ähnlichen Angaben über die Bakterien existieren[5]).

Zwei dünnwandige Probiergläschen mit je $^1/_4$ ccm einer frischen Bouillonkultur wurden 10 Minuten lang bei 45° C gehalten und dann plötzlich in Schneewasser abgekühlt, 10 Minuten darin gelassen, wieder in die Temperatur von 45° C gebracht u. s. w. Dreimal wurde diese Prozedur wiederholt und schließlich mit Gelatine in Petri'sche Schälchen ausgegossen. Die letzteren wurden bei einer Temperatur von 22° C gehalten[6]), da Bac. mes. erst bei dieser Temperatur etwas üppiger sich entwickeln kann, bei einer niedrigeren aber sein Wachstum sehr träge ist. Nach dem Verlaufe von

1) H. Buchner, Ueber die Ursache der Sporenbildung beim Milzbrandbacillus. (Centr. f. Bakt. Bd. VIII. 1890.)

2) Beiträge zur Kenntnis der Anpassungsfähigkeit der Bakterien an ursprünglich ungünstige Temperaturverhältnisse. (Ref. in Centr. f. Bakt. Bd. XVI.)

3) Max Gruber, Notiz über die Widerstandsfähigkeit der Sporen. (Centr. f. Bakt. Bd. III. 1888.)

4) Emma Strub, Ueber Milchsterilisation. (Centr. f. Bakt. Bd. VII. 1890.)

5) Meines Wissens nur die Arbeit von L. Nencki und Zawadski ausgenommen. (Zdrowie. Bd. VII. 1891.)

6) Auf die oben beschriebene Weise wurden die folgenden Versuchsproben angestellt oder behandelt.

24 Stunden konnte man schon eine sehr große Zahl von entwickelten Kolonieen beobachten. Die Gelatine war oberflächlich verflüssigt. Augenscheinlich hat also dieser plötzliche Temperaturwechsel von 0°—45° C und umgekehrt keinen merkbaren Einfluß ausgeübt.

Ein ähnlicher Versuch mit dem Temperaturwechsel von 0°—50° und umgekehrt hat dieselben Resultate ergeben, nur mit dem Unterschiede, daß hier die Auskeimung 36 Stunden dauerte. Die Bacillen sind also in ihrer Vermehrungsfähigkeit wahrscheinlich etwas zurückgegangen.

Das Lassen der Kulturen bei 45° und 50° wirkte befördernd, bei 0° nicht befördernd, aber auch nicht merkbar schädlich, was aus einem Versuche ersichtlich wurde, in welchem 2 Proben, die 24 Stunden in Schneewasser gelassen und dann ausgegossen [1]) wurden, nach 24 Stunden schon sichtbare Kolonieen gebildet haben.

Eine vorläufige Prüfung hat bewiesen, daß die Temperatur von 60° C schon ein wenig ungünstig wirkt, und demzufolge habe ich mit Berücksichtigung dieser Temperatur zwei vergleichende Versuchsreihen angestellt:

1) 2 Proben wurden bei einer langsamen Temperaturerhöhung bis 60° C erwärmt und bei dieser Temperatur 15 Minuten lang gehalten, dann aber langsam abgekühlt und ausgegossen.

2) 2 Proben wurden auf dieselbe Weise zweimal mit einer 6-stündigen Pause behandelt.

3) 2 Proben wurden dreimal auf dieselbe Weise behandelt.

4) 2 Proben wurden abgekühlt, dann plötzlich in eine Temperatur von 60° C gebracht, bei derselben 15 Minuten lang belassen, hierauf plötzlich in Schneewasser auf 10 Minuten eingesetzt und ausgegossen.

5) 2 Proben wurden ebenfalls zweimal mit einer 6-stündigen Pause behandelt.

6) 2 Proben endlich ebenso dreimal behandelt.

In der folgenden Tabelle haben wir eine Zusammenstellung der Resultate:

No.		Zahl der Kolonieen	Sichtbare Kolonieen erschienen nach
1)	a)	559	36 Stunden
	b)	541	„ „
2)	a)	568	„ „
	b)	503	„ „
3)	a)	555	„ „
	b)	551	„ „
4)	a)	506	48 „
	b)	620	„ „
5)	a)	412	„ „
	b)	425	„ „
6)	a)	420	„ „
	b)	407	„ „

Aus dieser Tabelle wird vor allem ersichtlich, daß die Tempe-

1) Im Folgenden werde ich diesen einfachen Ausdruck statt: „mit Nährgelatine in Petri'sche Schälchen ausgegossen“ gebrauchen.

ratur von 60° C auf Bac. mes. schädlich wirkt und derselbe wahrscheinlich zur Sporenbildung schreitet, welche letzteren nach dem plötzlichen Temperaturwechsel etwas träger keimen.

Die etwas schwankenden Kolonieenzahlen scheinen jedoch zu zeigen, daß der plötzliche Temperaturwechsel vielleicht auch auf die Verminderung der Sporenzahl einen Einfluß ausgeübt hat.

Die zu der letzten Versuchsreihe benutzte, bei 15° C gehaltene Bouillonkultur war schon mehrere Tage alt, so daß man in derselben die Anwesenheit von mehr resistenten Entwickelungsformen vermuten konnte.

Die vorläufigen Versuche haben eine sehr ungünstige Wirkung der Temperatur von 70° C auf die frischen Kulturen bewiesen, indem die alte Bouillonkultur sich ganz anders verhalten hat, was aus Folgendem ersichtlich wird:

1mal bei 70° erwärmt a) 388 Kolonieen nach 60 Stunden
1 „ „ „ „ b) 544 „ „ „ „
2 „ „ „ „ a) 167 „ „ „ „
2 „ „ „ „ b) 399 „ „ „ „
3 „ „ „ „ a) 211 „ „ „ „

Diese Versuche sind auf dieselbe Weise, wie die oben beschriebenen 4), 5) und 6) ausgeführt worden.

Aus der Tabelle kann man nur eine Verzögerung des Wachstums ersehen, die Kolonieenzahl gestattet aber keine Schlußfolgerungen zu ziehen.

Durch diese Beobachtungen belehrt, habe ich eine frische Kultur in flüssiger Gelatine vorbereitet und nach jedem Erwärmen die Versuchsproben bei 38° C 12 Stunden lang gehalten, um den möglicherweise gebliebenen Sporen die Möglichkeit, sich zu entwickeln, zu geben.

No.	Temp.			Zahl der Kolonieen
1	bei 70°	plötzlich erwärmt u. erkaltet	2mal mit Pausen	21
2	„ „	langsam „ „ „	„ „ „ „	6
3	„ „	„ „ „ „	3 „ „ mit 12-std. Pausen bei 38°	3
4	„ „	plötzlich „ „ „	„ „ „ „ „ „ „ „ „	0
5	„ „	„ „ „ „	„ „ nach einander	a) 19 b) 24
6	„ 80°	langsam „	2 „ mit 12-stünd. Pausen bei 38°	3
7	„ „	plötzlich „	„ „ „ „ „ „ „ „	1
8	„ „	langsam „	3 „ „ „ „ „ „ „	2
9	„ „	plötzlich „	„ „ „ „ „ „ „ „	a) 0 b) 0
10	„ 90°	langsam „	„ „ „ „ „ „ „ „	a) 4 b) 0
11	„ „	plötzlich „	„ „ „ „ „ „ „ „	a) 0 b) 0
12	„ 100°	langsam „	„ „ „ „ „ „ „ „	2
13	„ „	plötzlich „	„ „ „ „ „ „ „ „	a) 0 b) 0
14	„ „	langsam erwärmt u. erkaltet	1 „ „ „ „ „ „ „	a) 1 b) 0
15	„ „	„ „ „ „	2 „ „ „ „ „ „ „	a) 1 b) 2

No.	Temp.			Zahl der Kolonieen
16	bei 100°	langsam erwärmt u. erkaltet	3mal mit 12-stünd. Pausen bei 38°	a) 7 b) 5
17	„ „	plötzlich „ „ „	1 „ „ „ „ „ „ „	a) 2 b) 1
18	„ „	„ „ „ „	2 „ nach einander	a) 1 b) 2
19	„ „	„ „ „ „	3 „ „ „	a) 1 b) 3

Zu dieser Tabelle sei noch hinzugefügt, daß die meisten nach dem plötzlichen Temperaturwechsel entstandenen Kolonieen sich viel später entwickelten, als die nach der langsamen Erwärmung entstandenen. Bei dem ersten Erscheinen der entwickelten Kulturen wurden die Platten weggenommen und im negativen Falle längstens 4—5 Tage gehalten.

Die langsame Erwärmung und Abkühlung dauerte mindestens $^1/_4$ Stunde.

Aus der Tabelle wird vor allem ersichtlich, daß das wiederholte plötzliche Erwärmen bei 80°, 90°, 100° C mit 12-stündigen Pausen bei 38° C stärker sterilisierend wirkte, als ein langsames Erwärmen.

Man kann es vielleicht auf diese Weise erklären, daß bei einer langsamen Erwärmung Sporen gebildet werden, die sich dann entwickeln und vermehren können, was aus der Probereihe 14), 15), 16) am besten ersichtlich wird.

Bei der Temperatur von 70° C habe ich schwankende Resultate erhalten.

Die ursprünglich in der Kultur gewesenen Sporen mußten natürlich auch in den ungünstigsten Fällen bleiben.

Bei der Betrachtung dieser Resultate muß man noch den Umstand berücksichtigen, daß, obgleich alle Proben nur 20 Minuten lang in der angegebenen Temperatur gehalten wurden, die langsam erwärmten eigentlich eine viel längere Zeit ungünstigen Temperaturverhältnissen ausgesetzt waren.

Was die plötzliche Abkühlung betrifft, so kann man kaum annehmen, daß die Sporen durch plötzliche Abkühlung zu Grunde gehen könnten.

Die Resultate der Beobachtungen kurz zusammengefaßt, ersieht man, 1) daß es zur vollständigen oder fast vollständigen Abtötung des Bac. mes. vulgatus ausreicht, wenn man das betreffende Medium dreimal, und zwar jedesmal 20 Minuten lang, einer Temperatur von 80° C aussetzt, wobei man zwischen den einzelnen Erwärmungen zwölfstündige Pausen von 38° bis 40° C eintreten läßt;

2) daß auf die Abtötung des Bac. mes. vulg. eine langsame

Temperaturerhöhung, auch bei der gewöhnlichen Sterilisation im Koch'schen Apparate, ungünstig wirkt;

3) und daß endlich eine plötzliche Abkühlung kaum einen ungünstigen Einfluß auf Bac. mes. ausüben kann.

Laboratorium von Prof. Dr. Karl Olszewski.

Ueber Nitrat zerstörende Bakterien und den durch dieselben bedingten Stickstoffverlust.

[Mitteilung aus der landwirtschaftlichen Versuchsstation in Bonn.]

Von

R. Burri und A. Stutzer.

(Schluß.)

Zu diesem Zwecke wurde eine 0,3-proz. Nitratbouillon hergestellt, welche blaues Lackmuspapier noch ganz schwach rötete und im Verhältnis zu den großen Sodamengen, welche zugesetzt wurden, als neutral angesehen werden konnte. Die Wirkung der Soda erhellt aus folgender Zusammenstellung.

\+ bedeutet vergoren, — bedeutet nicht vergoren.

0,3-proz. Nitrat-bouillon	B. coli + B. d. I					B. d. II				
	nach 24 Stdn.	2×24 Stdn.	3×24 Stdn.	4×24 Std.	5×24 Std.	24 Stdn.	2×24 Std.	3×24 Stdn.	4×24 Std.	5×24 Std.
ohne Sodazusatz	Schaum	+				Schaum	+			
mit 0,1 Proz. Soda	Schaum	+				Schaum	+			
„ 0,2 „ „	Schaum	+				Schaum	+			
„ 0,3 „ „	trübe	Schaum	Schaum	+		trübe	trübe	Schaum	—	—
„ 0,4 „ „	trübe	trübe	trübe	trübe	trübe	klar	trübe	trübe	trübe	trübe
„ 0,6 „ „	trübe	klar	trübe	trübe	trübe	klar	klar	klar	klar	klar

Ein Zusatz von 0,2 Proz. Soda hat demnach weder bei B. coli plus B. d. I noch bei B. d. II eine gärungshemmende Wirkung. Doch schon bei 0,3 Proz. tritt bei den symbiotisch wirkenden Arten die Gärung verzögert ein, wird aber doch nach 4 Tagen zu Ende geführt, während bei der gleichen Sodamenge B. d. II seine Salpetermenge auch am 5. Tage noch nicht zerstört hat. Wie aus der Tabelle ersichtlich ist, findet noch Wachstum bei Sodazugaben statt, deren Höhe den Gärprozeß nicht in Gang kommen läßt. Im übrigen beweisen diese Versuche zur Genüge, daß die mit der fortschreitenden Gärung zunehmende Alkalescenz des Nährbodens die Ursache der unvollständigen Vergärung von Nitratmengen ist, welche 5 bis 6 g pro

Liter übersteigen. An dieser Stelle sei noch erwähnt, daß die durch freies Alkali in ihrer Gärwirkung gehemmten Bakterien keine Anzeichen von Abschwächung zeigen. Als wir aus einer Kultur, die ursprünglich 12 g Salpeter im Liter Bouillon enthielt und die ihre Thätigkeit schon längst eingestellt hatte, eine Spur auf frische 0,3-proz. Nitratbouillon übertrugen, trat schon innerhalb 20 Stunden stürmische Gasentwickelung ein und 2×24 Stunden nach der Uebertragung war sämtliches Nitrat verschwunden.

d) Salpetergärung bei Gegenwart von freier Säure.

Ein Blick auf die im vorigen Abschnitte erwähnten Versuchsreihen zeigt, daß sich die Kulturen „ohne Sodazusatz" in Bezug auf Eintritt und Vollendung der Gärung in nichts von denjenigen mit geringem Sodagehalte unterschieden, sondern wie diese die denkbar günstigsten Resultate aufwiesen. Dieser Umstand veranlaßte uns, durch weitere Versuche festzustellen, wie viel freie Säure notwendig ist, um die von unseren Organismen bemerkte Salpeterzerstörung zu verhindern. Es würde eine in der landwirtschaftlichen Praxis auf Grund von exakten Versuchen einzuführende Behandlung des Pferdemistes im Sinne einer Unterdrückung der salpeterzerstörenden Bakterien voraussichtlich von keinem Schaden, wohl aber von großem Vorteile sein.

Unsere Versuche beziehen sich vorerst auf die gärungshemmende Wirkung der Phosphorsäure. Durch Auflösen von 20 g Superphosphat in einem Liter Wasser hatten wir eine Lösung erhalten, welche 0,3 Proz. P_2O_5 enthielt. Von dieser Lösung, die steril war, wurden wechselnde Mengen in weite Reagenzgläser gegeben, welche je 20 ccm einer sterilen neutralen 0,3-proz. Nitratbouillon enthielten. Direkt nach Zugabe der Säure erfolgte die Impfung mit je einer Oese einer soeben vergorenen Nitratbouillonkultur.

Verwendet wurden folgende Konzentrationen:

20 ccm Bouillon + $^1/_2$ ccm der Säure entsprechend 0,008 Proz. P_2O_5
20 „ „ + 1 „ „ „ „ 0,014 „ „
20 „ „ + 2 „ „ „ „ 0,027 „ „
20 „ „ + 3 „ „ „ „ 0,039 „ „
20 „ „ + 5 „ „ „ „ 0.060 „ „

Aus folgender Zusammenstellung ist die Wirkung der genannten Säuremengen zu ersehen:

Säuremenge	B. coli + B. d. I					B. d. II				
	nach 1 Tage	nach 2 Tagen	nach 3 Tagen	nach 4 Tagen	nach 5Tagen	nach 1 Tage	nach 2 Tagen	nach 3Tagen	nach 4Tagen	nach 5Tagen
0,008 Proz.	trübe	Schaum	vergoren			Schaum	vergoren			
0,014 „	trübe	Schaum	vergoren			Schaum	vergoren			
0,027 „	trübe	Schaum	vergoren			Schaum	vergoren			
0,039 „	trübe	trübe	Schaum	vergoren		Schaum	vergoren			
0,060 „	trübe	trübe	trübe	trübe	trübe	Schaum	vergoren			

Es besteht sonach zwischen dem Typus B. coli + B. d. I und dem Typus B. d. II ein ganz bedeutender Unterschied in Bezug auf die Einwirkung von freier Phosphorsäure. Bei den symbiotisch wirkenden Arten zeigt sich schon bei ungefähr 0,03 Proz. P_2O_5 eine gärungshemmende Wirkung und bei 0,06 Proz. ist 5 Tage nach der Impfung noch keine Gärung eingetreten. Die betreffende Kultur wurde, weil sie sehr trübe war, noch weiter beobachtet und merkwürdigerweise trat 16 Tage nach der Impfung Gasentwickelung auf, und nach 2 weiteren Tagen war alles Nitrat verschwunden. Die Grenze liegt demnach für diese Arten zwischen 0,06 und 0,07 Proz. B. d. II hat bei sämtlichen verwendeten Säuremengen in gleicher Weise schnell Gas entwickelt und sämtliches Nitrat zerstört, so daß zur Feststellung der Säuregrenze noch einige weitere Versuche notwendig wurden.

Als Nährboden diente wie vorhin die neutrale 0,3-proz. Nitratbouillon. Von einer Superphosphatlösung, welche im Liter 30 g P_2O_5 enthielt, wurden zu 20 ccm Bouillon gegeben:

0,5 ccm entsprechend 0,07 Proz. P_2O_5
0,8 " " 0,11 " "
1,0 " " 0,14 " "
2,0 " " 0,27 " "
3,0 " " 0,39 " "
4,0 " " 0,50 " "

Säuremenge	Geimpft mit B. d. II				
	nach 1 Tage	nach 2 Tagen	nach 3 Tagen	nach 4 Tagen	nach 5 Tagen
0,07 Proz.	Schaum	vergoren			
0,11 "	Schaum	vergoren			
0,14 "	trübe	Schaum	vergoren		
0,27 "	klar	klar	klar	klar	klar
0,39 "	klar	klar	klar	klar	klar
0,50 "	klar	klar	klar	klar	klar

Ein Zusatz von 0,14 Proz. freier Phosphorsäure zu neutralem Nährboden verhindert demnach nicht, daß der Salpeter in sehr kurzer Zeit vollständig zerstört wird; bei einem Gehalte von 0,27 Proz. Phosphorsäure findet jedoch überhaupt kein Wachstum unseres Bacillus mehr statt. Bemerkenswert ist, daß bei B. d. II mehr als die doppelte Menge Phosphorsäure zur Unterdrückung der Salpetergärung notwendig ist als bei B. coli plus B. d. I.

Viel stärker als Phosphorsäure wirkt Schwefelsäure, wie die folgende Zusammenstellung zeigt:

Säuremenge SO_3	1) B. coli + B. d. I					
	nach 1 Tage	nach 2 Tagen	nach 3 Tagen	nach 4 Tagen	nach 5 Tagen	nach 14 Tagen
0,01 Proz.	trübe	Schaum	Schaum	vergoren		
0,02 „	trübe	trübe	Schaum	Schaum	vergoren	
0,03 „	trübe	trübe	trübe	trübe	trübe	wieder klar
0,04 „	trübe	trübe	trübe	trübe	trübe	wieder klar
0,05 „	trübe	trübe	trübe	trübe	trübe	wieder klar

Säuremenge SO_3	2) B. d. II					
	nach 1 Tage	nach 2 Tagen	nach 3 Tagen	nach 4 Tagen	nach 5 Tagen	nach 14 Tagen
0,02 Proz.	Schaum	Schaum	vergoren			
0,04 „	trübe	Schaum	vergoren			
0,06 „	klar	klar	klar	klar	klar	klar
0,08 „	klar	klar	klar	klar	klar	klar
	klar	klar	klar	klar	klar	klar

Es genügte demnach ein Zusatz von 0,04 Proz. SO_3, um nicht nur die Gärung, sondern auch das Wachstum von B. coli + B. d. I zu unterdrücken; die gleiche Wirkung wurde bei B. d. II durch einen Zusatz von 0,06 Proz. SO_3 erzielt.

e) Quantitative Gärversuche.

Bei dem Studium der vollständigen Vergärung einer gewissen Salpetermenge, wie sie durch die von uns beschriebenen Bakterien bewirkt wird, steht die Frage nach dem Verbleibe des Salpeterstickstoffs selbstredend im Vordergrunde. Wir haben nach dieser Richtung einige Versuche vorgenommen, die zu sehr bemerkenswerten Resultaten geführt haben. Die Wahl des Nährmediums war dabei von großer Bedeutung, und kam es uns sehr zu statten, daß die oben als B. d. II beschriebene Art in der künstlichen Nährlösung, die als einzige N-Quelle Salpeter enthält, vorzüglich gedeiht. Nebenbei sei angeführt, daß wir uns auch bemühten, die Zerlegung des Salpeters durch B. coli und B. d. I quantitativ zu verfolgen; da wir aber genötigt waren, als Nährmedium eine Pepton-Fleischbouillon zu verwenden, stellten sich bei Ausführung der chemischen Analysen aus leicht einzusehenden Gründen so viele Unzulänglichkeiten ein, daß wir es vorziehen, die betreffenden Resultate an dieser Stelle nicht zu verwerten.

Die Arbeiten mit B. d. II gestalteten sich verhältnismäßig einfach. Die im Anfange des Abschnittes angegebene Zusammensetzung der Nährlösung wurde dahin abgeändert, daß anstatt 2 g $NaNO_3$ 3 g und anstatt 2 g Dextrose 3 g Dextrose per Liter Lösung in Verwen-

dung kamen. Wie aus den früheren Angaben ersichtlich, war im normalen Falle nach 3 Tagen die Gärung sicher beendigt. Nitrat war nicht mehr nachzuweisen, Nitrit ebenfalls nicht und ebenfalls fehlte, Aussaat in die künstliche Nährlösung vorausgesetzt, das Ammoniak. Es wurde auf letzteres nicht nur qualitativ geprüft, sondern auch große Mengen einer vergorenen Kultur (400 ccm) mit Magnesia destilliert und das Destillat in vorgelegter Schwefelsäure von bekanntem Gehalt aufgefangen; das Ergebnis war ein negatives.

Der ursprünglich in Form von Salpeter zugesetzte Stickstoff war demnach nur zu suchen in den nach vollendeter Gärung in der Kulturflüssigkeit zurückbleibenden organischen N-Verbindungen einerseits und in den während der Gärung entwickelten gasförmigen Produkten andererseits.

Daraufhin, daß die Mengen der während der Gärung gebildeten organischen Substanz nicht gering sein würden, deutete schon das Aussehen der Kulturen während der Gärung. Es bildeten sich nämlich in enormer Menge graulichweiße Flocken in der klaren Nährlösung, die sich nach und nach auf den Boden des Gefäßes in voluminösem Haufen sammelten. Um immerhin für quantitative Bestimmungen genügendes Material zu bekommen, impften wir je 400 ccm der Nährlösung in hohen cylinderförmigen Gläsern. Diese letzteren wurden während 3 Tagen bei 30° C gehalten, sodann deren Inhalt eingeengt, der gebundene N durch Behandlung mit konzentrierter H_2SO_4 in Ammoniak übergeführt und dann nach Kjeldahl bestimmt. In dieser Weise wurden 4 Kulturen neben einander behandelt. Der ursprüngliche N-Gehalt betrug in jeder derselben laut Analysenbefund 200 mg (aus dem zugewogenen Nitratsalz berechnet 198,2 mg). Nach vollendeter Gärung enthielten 3 der Kulturen (die vierte war verunglückt)

44,4 mg 40,6 mg und 41,2 mg N,

den wir nach oben Gesagtem als organischen Stickstoff bezeichnen dürfen. Davon entfällt jedenfalls der geringste Teil auf die Bakteriensubstanz und der größte Teil auf ausgeschiedene, nicht organisierte Körper eiweißartiger Natur. Amidoverbindungen konnten in erheblicher Menge nicht nachgewiesen werden. Im übrigen haben wir es absichtlich unterlassen, auf diese Verhältnisse näher einzutreten, die dringend eine Bearbeitung in einem Umfange erfordern, welcher über den Rahmen dieser Abhandlung hinausreicht. Wir begnügen uns vorläufig damit, festzustellen, daß Bacillus denitrificans II das Vermögen besitzt, bei Wachstum in der genannten Nährlösung, binnen 2 bis 3×24 Stunden den 5. Teil des vorhandenen Salpeterstickstoffes in organisch gebundenen Stickstoff überzuführen. Vielleicht gelingt es durch genaue Verfolgung sämtlicher bei diesem Vorgange beteiligten Verhältnisse, die Frage nach den Schicksalen der durch höhere Pflanzen aufgenommenen Nitrate ihrer Lösung um einen Schritt näher zu bringen. In Folgendem werden wir zeigen, wie die Untersuchung der gasförmigen Gärungsprodukte die eben erwähnten Resultate bestätigt.

Für diese Versuche benutzten wir die von Giltay und Aberson

angegebenen und vom Geißler'schen Institute in Bonn gearbeiteten Gärungskölbchen. Dieselben fassen ca. 100 ccm, tragen oben einen ziemlich engen, ganz kurzen Hals und seitlich einen durch eingeschliffenen Hahn verschließbaren Tubulus. Auf den kurzen Hals paßt durch Glasschliff ein Aufsatz mit kugelförmiger Erweiterung, welche ihrerseits in ein enges röhrenförmiges Stück ausläuft. Ueber dieses letztere wird der Schlauch gestülpt, welcher die entwickelten Gase in das Endiometerrohr zu führen bestimmt ist.

Versuch a. Inhalt des Kölbchens 91,9 ccm sterile Nährlösung. Nach dem letztmaligen Erhitzen derselben wurde abgekühlt, unmittelbar nachher das Impfmaterial eingeführt und der Gasabführungsschlauch mit dem durch Quecksilber gefüllten Endiometerrohre verbunden. Der ganze Apparat stand in einem auf 30° C eingestellten Wärmeschranke. Die Gasentwickelung hatte nach 24 Stunden begonnen und nach 4×24 Std. sank das Hg, von welchem zu dieser Zeit ca. 37 ccm verdrängt waren, nicht mehr tiefer. Das Kölbchen wurde nun in ein Paraffinbad getaucht und und langsam bis 100° erhitzt, um die im Apparate befindliche Luft, sowie die in der Flüssigkeit absorbierten Gase auszutreiben. Nach 5 Minuten langem kräftigem Kochen wurde die Verbindung zwischen Endiometerrohr und Gärkölbchen aufgehoben und das Gasvolumen über Wasser bei Gleichstellung der Niveaus abgelesen.

Volumen des aufgefangenen Gases bei 765 mm Barometer und 20° C	45,0 ccm.
Beim Schütteln des Gases mit Kalilauge änderte sich das Volumen nicht, somit keine CO_2 vorhanden.	
Das Volumen der im Apparate enthaltenen Luftmenge wurde durch direkte Messung gefunden = 14,9 ccm.	
Davon entfallen 11,8 ccm auf N } 3,1 „ „ O }	
Ein Teil des O ist voraussichtlich absorbiert; in der That wurden von obigem Gemenge durch pyrogallussaures Kali absorbiert.	1,5 „
Nicht absorbiertes Gas	43,5 ccm.
Zu subtrahieren der auf Luft entfallende N	11,8 „
Durch Gärung geliefertes Gas	31,7 ccm.

Dieses Volumen unter Berücksichtigung der Tension des Wasserdampfes auf 0° Temperatur und 760 mm Druck reduziert, entspricht 29,1 ccm.

Laut Analysenbefund waren in 100 ccm der Nährflüssigkeit 50 mg N, somit in 91,9 ccm = ...	45,95 mg N.
Obige 31,7 ccm entsprechen aber = ...	36,55 „ N.

Es sind somit von dem ursprünglich in Form von Nitratstickstoff zugesetzten N 79,5 Proz. als elementarer N aufgefangen worden.

Daß das fragliche Gas wirklich N war, dafür sprach schon die annähernde Uebereinstimmung mit der Menge des in vergorenen Kulturen fehlenden Stickstoffes. Das Gas ließ sich übrigens durch O nicht direkt verbrennen, konnte also kein H sein, andererseits wurde

es durch Alkohol nicht absorbiert, war also kein N_2O. Es sei hier nochmals betont, daß der Rückstand der Gärgefäße weder Ammoniak-, noch Nitrit-, noch Nitratreaktion zeigte.

Versuch b. Die Gärung ging hier unter vollständig gleichen Bedingungen vor sich, nur wurde das Gas nicht über Quecksilber, sondern mittels des von Zulkowsky[1]) angegebenen Apparates über Natronlauge aufgefangen. Ohne auf die Einzelheiten dieses Versuches einzugehen, stellen wir hier nur das Endresultat neben das obige hin. Von 100 mg ursprünglich vorhandenen Salpeterstickstoffes sind 82,7 Proz. als elementarer N aufgefunden worden. Auch dieses Ergebnis bestätigt annähernd den früher gemachten Befund, daß nach der Gärung circa 20 Proz. des Nitratstickstoffes als organischer N in der Nährlösung zurückbleiben.

In schroffem Gegensatze stehen hingegen die Resultate dieses Abschnittes zu den von Giltay und Aberson für ihren Nitrat reduzierenden Spaltpilz gefundenen. Genannte Autoren haben in oben beschriebener Weise Gärungsversuche ausgeführt, die Gase über Hg aufgefangen und dabei gefunden, daß die Menge des durch die Gärung frei gewordenen N fast vollständig mit der ursprünglich in der Nährlösung vorhandenen Menge Nitratstickstoffes übereinstimmt. Die Differenzen schwankten nur zwischen 0,4 und 1,1 Proz. und werden von den genannten Versuchsanstellern durch Verwendung einer gewissen Menge N zum Aufbau des Bakterienplasmas erklärt, event. durch Entweichen von Gas durch die Wandung des Gummischlauches. Gesamtstickstoffbestimmungen der Nährlösung nach vollendeter Gärung scheinen nicht vorgenommen worden zu sein.

f) Anaërobe Züchtung.

Sämtliche Autoren, welche bisher mit Salpeter zerstörenden Spaltpilzen gearbeitet haben, betonen, daß Luftzutritt für das Zustandekommen der Gärung störend wirkt und bisweilen werden die betreffenden Organismen kurzweg als Anaërobe bezeichnet; als solcher im strengen Sinne darf aber keine der bisher beschriebenen Arten, soviel man aus den Litteraturangaben ersehen kann, aufgeführt werden. Die unter O-Abschluß gehaltenen Kulturen boten bei den von uns beschriebenen Arten ein ganz besonderes Interesse, weil es sich um einen Vergleich des Verhaltens bei Anwendung des symbiotischen Gärungstypus einerseits und bei Anwendung des monobiotischen Gärungstypus andererseits handelte.

Als Kulturgefäße verwendeten wir die schon weiter oben beschriebenen Gärkölbchen von Giltay und Aberson. Durch den seitlichen Tubulus wurde nach geschehener Impfung bei geöffnetem Hahne ein kräftiger Wasserstoffstrom geleitet, welcher die Nährflüssigkeit durchstrich und dann seinen Weg durch den Hals des Kölbchens in ein Ableitungsrohr nahm, das unter Vaselinöl mündete. Durch Schließen des Hahnes am Tubulus während der Durchleitung des

1) Ann. d. Chemie. CLXXXII p. 296.

Wasserstoffstromes wurde dieser unterbrochen und der Zuleitungsschlauch entfernt. Das unter Vaselinöl mündende Ableitungsrohr gestattete in leichter Weise allfällig entwickelte Gase aufzufangen.

Bei einer ersten Versuchsreihe waren 2 Kölbchen mit B. coli plus B. d. I und 2 weitere Kölbchen mit B. d. II geimpft; Nährmedium war 0,3 Proz. Nitratbouillon. Der Wasserstoffstrom wurde nur 5 Minuten durchgeleitet. Nach 24 Stunden war bei B. d. II schon Gasentwickelung zu bemerken, bei B. d. I plus B. coli hingegen erst nach 6×24 Stunden. Nach 8×24 Stunden wurden die Versuche unterbrochen und es stellte sich heraus, daß sämtliche 4 Kulturen normal vergoren hatten, d. h. es war weder Nitrit noch Nitrat in der Flüssigkeit nachzuweisen. Bei B. d. I plus B. coli war die Gärung mit Verspätung eingetreten, hat sich aber sodann schnell vollzogen. Es deutete dies auf einen hemmenden Einfluß des anaëroben Kulturverfahrens; da wir uns zudem bewußt waren, daß der Wasserstoffstrom zu kurze Zeit durchgeleitet war, nahmen wir für B. d. I plus B. coli eine Wiederholung vor und leiteten den Wasserstoffstrom 15 Minuten lang durch den geimpften Kölbcheninhalt.

Bei dieser zweiten Versuchsreihe sollte auch ein schon früher an anderer Stelle erörterter Punkt Berücksichtigung finden. Es handelt sich um die Rolle, welche die luftbedürftige Art B. d. I im symbiotischen Verhältnisse beim Zustandekommen der Salpetergärung spielt.

Wir hatten seinerzeit vermutet, daß B. d. I durch die Entziehung des Sauerstoffes aus dem Nährmedium den B. coli veranlasse, das Salpetermolekül anzugreifen und so das Bild der geschilderten Gärungserscheinungen hervorzurufen. Um dieser Frage nochmals näher zu treten, wurden 2 Gärkölbchen mit B. d. I plus B. coli und zwei weitere Gärkölbchen mit B. coli allein geimpft. Die Luft wurde diesmal durch 15 Minuten langes Durchleiten von Wasserstoff verdrängt. Mit dem verwendeten Impfmateriale wurden Kontrolkulturen bei Luftzutritt wie gewöhnlich angesetzt.

Nach 2×24 Stunden zeigten die letzteren Schaumbildung und nach 3×24 Siunden keine Reaktion mit Diphenylamin. Die 4 Kölbchen ohne O waren vom ersten Tage an trübe, veränderten ihr Aussehen indes bis zum 6. Tage nicht. Zu dieser Zeit trat in dem einen nur mit B. coli geimpften schwache Gasbildung ein und am folgenden Tage war dies auch bei den 3 übrigen Kölbchen der Fall. Die Gasbildung dauerte etwa 3 Tage an. Die entwickelte Menge schwankte bei den 4 Kulturen zwischen 1 und $1^1/_2$ ccm. Es ist wohl anzunehmen, daß das Gas nicht aus Stickstoff, sondern aus Wasserstoff oder Kohlenwasserstoff bestand, was jedoch bei der großen Menge im Versuchsgefäße vorhandenen Wasserstoffes nicht leicht festzustellen war. Eine Reaktion aber im Sinne der bekannten N-Entwickelung wäre, wenn einmal eingetreten, auch sicherlich zu Ende geführt worden. Nach 14 Tagen wurden die Versuche abgebrochen und nun war in sämtlichen 4 Kölbchen kein Nitrat mehr nachzuweisen, wohl aber große Mengen von Nitrit. Es ist nicht überraschend, daß die mit B. d. I plus B. coli und die mit

B. coli allein geimpften Kulturen sich vollständig übereinstimmend verhalten haben; denn infolge seines ausgeprägten O-Bedürfnisses ist B. d. I überhaupt nicht zur Entwickelung gekommen, so daß die 4 Kulturen physiologisch identisch waren.

Eine dritte Versuchsreihe wurde mit Hilfe einer Bouillon ausgeführt, deren Gehalt an Nitratstickstoff genau bekannt war. 2 Kölbchen wurden mit B. d. II geimpft, zwei andere mit B. d. I plus B. coli und durch sämtliche während 15 Minuten Wasserstoff geleitet.

Auch in diesem Falle vergoren die mit B. d. II geimpften Kulturen in normaler Zeit. Die beiden symbiotischen Kulturen hingegen wurden 10 Tage stehen gelassen. Nach dieser Zeit ergab eine Prüfung auf Nitrat (nach Zerstörung des Nitrites in einer Probe der Kultur durch Harnstoff) ein negatives Ergebnis. Nitrit und Ammoniak wurden quantitativ bestimmt. In Folgendem sind die Resultate zusammengestellt.

	Kultur a.	Kultur b.
Von der Impfung	85,1 mg Nitrat-N	88,1 mg Nitrat-N
Nach der Gärung	69,2 „ Nitrit-N	69,7 „ Nitrit-N
„ „ „	13,0 „ Ammoniak-N	13,5 „ Ammoniak-N

Demnach sind von dem ursprünglich als Nitrit-N vorhandenen N im Mittel aus 2 Versuchen 80,2 Proz. in Form von Nitrit-N wiedergefunden worden. Ob die 13, bezw. 13,5 mg Ammoniak-N ihren Ursprung dem in der Bouillon enthaltenen Pepton oder dem zugesetzten Nitrate verdanken, lassen wir dahingestellt. Wir sind aber geneigt, das erstere anzunehmen, und zwar in Hinsicht auf mehrfache Analogieen, welche zwischen B. d. I plus B. coli (beide zusammen als biologische Einheit aufgefaßt) einerseits und B. d. II, andererseits in ihrem Verhalten gegen salpetersaure Salze bestehen. Letztgenannte Art hat bekanntlich in peptonfreier Nährlösung keine Spur von Ammoniak gebildet, bei obigen Versuchen in Nitratbouillon hingegen hat die Analyse nach der Gärung in einem Falle 15,9 und im anderen 18,4 mg Ammoniakstickstoff bei einem ursprünglichen Gehalte von 83,8 bezw. 85,8 mg Nitrat-N ergeben.

Der Einwand, daß jene Versuche mit künstlicher Nährlösung bei Zutritt von Luft ausgeführt wurden, ist nicht stichhaltig, denn thatsächlich vergärt B. d. II überhaupt nur bei Luftabschluß, und zwar verschafft sich diese Art die nötigen Bedingungen dazu teils durch Haut-, teils durch Schaumbildung an der Oberfläche der Nährflüssigkeit. Ist diese Oberfläche im Verhältnis zur Tiefe der Flüssigkeitsschicht sehr groß, so findet die Gärung nur unvollständig oder gar nicht statt. Als wir Erlenmeyerkolben mit Nitratbouillon in ca 1 cm hoher Schicht beschickten und einen Teil der Kolben mit B. d. I plus B. coli, einen anderen Teil mit B. d. II impften, zerstörten die ersteren den Salpeter in normaler Zeit, B. d. II hingegen war in seiner Gärwirkung so gehemmt. daß der Kolbeninhalt noch nach 4 Wochen maximale Reaktion mit Diphenylamin und H_2SO_4 gab.

Wir fassen hier die Resultate über die anaëroben Züchtungsversuche nochmals zusammen:

1. Bei vollständigem Abschlusse von O findet in nitrathaltigen Nährlösungen durch B. d. I plus B. coli keine Entbindung von freiem N statt. Das Nitrat verschwindet hingegen vollständig und der Nitratstickstoff findet sich zum größten Teile als Nitritstickstoff wieder.

2. Bei sehr beschränktem Luftzutritte kann sich B. d. I so weit entwickeln, daß mit B. coli zusammen Salpetergärung unter N-Entwickelung eingeleitet wird. Einmal im Gange, nimmt dieselbe den normal raschen Verlauf. B. d. I zehrt in diesem Falle wohl von einem Teile des disponibel gewordenen Salpetersauerstoffes.

3. Bei reichlichem Luftzutritte vergärt B. d. I plus B. coli den Salpeter in normaler Weise.

4. Bei vollständigem Luftabschlusse vergärt B. d. II den Salpeter in normaler Weise.

5. Bei reichlichem Luftzutritte wird die Gärwirkung von B. d. II gehemmt oder gänzlich aufgehoben.

Schlussbemerkung.

Bezüglich der Einwirkung des freien O auf die Salpetergärung entspricht der als B. denitrificans II beschriebene Spaltpilz vollkommen den von anderer Seite an mehr oder weniger einwandsfreien Reinkulturen von Salpeter zerstörenden Bakterien gemachten Beobachtungen. Dieselben stimmen alle darin überein, daß die Gärung am besten bei O-Abschluß vor sich geht und Zutritt von atmosphärischer Luft die Gärwirkung der betreffenden Arten beeinträchtigt. Diese Thatsachen scheinen in Hinsicht auf die Art und Weise der Salpeterzerstörung, welche ihrem Wesen nach die Folge eines höchst energischen Reduktionsprozesses ist, ganz selbstverständlich. Die seit langem von Praktikern und Theoretikern befürwortete ausgiebige Durchlüftung der bebauten Böden erscheint deshalb auch bezüglich der Frage der Stickstoffverluste in einem neuen bedeutungsvollen Lichte.

Leider haben wir indes auch eine Bakteriengruppe, die uns in ganz derselben Weise mit der Vernichtung eines Teiles der im Boden gebildeten Nitrate bedroht, bei welcher aber das erprobte Mittel der Bodendurchlüftung gänzlich erfolglos ist. Vertreter dieser Gruppe sind B. coli einerseits und B. denitrificans I andererseits, welche zusammen, auf Grund symbiotischer Verhältnisse, selbst bei reichlichem Luftzutritte Salpetergärung unter Entweichung freien Stickstoffes veranlassen zu können.

Das Zusammenwirken eines fakultativ anaëroben mit einem obligat aëroben Bakterium ermöglicht es in diesem Falle, daß bei Luftzutritt ein Reduktionsprozeß zustande kommt, der sonst nur unter O-Abschluß denkbar ist. Das Bestreben

der Praxis wird namentlich dahin gehen müssen, diese unter so eigentümlichen Verhältnissen vor sich gehende Art der Salpeterzerstörung zu verhindern. Die Mittel und Wege hierzu sind in dem Abschnitte über „Salpetergärung bei Gegenwart freier Säure“ angedeutet. Man wird den Mist mit diesen oder jenen Hilfsmitteln zunächst sterilisieren müssen, bevor man ihn in den Boden bringt.

Original-Referate aus bakteriologischen und parasitologischen Instituten, Laboratorien etc.

Mitteilungen aus der vom kgl. bayer. Staate subv. Versuchsstation für Bierbrauerei zu Nürnberg.

Sind die Hefen Frohberg und Saaz der Berliner Brauereiversuchsstation Hefetypen im physiologischen Sinne?

Vorläufige Mitteilung

von

Dr. E. Prior.

In der von mir gegebenen physikalisch-chemischen Erklärung der Gärungserscheinungen [1]) habe ich den Unterschied des sogenannten Endvergärungsgrades zwischen den beiden Hefen der Berliner Versuchsstation, Frohberg und Saaz, auf das verschiedene Durchlässigkeitsvermögen derselben, welches ich für Rohrzucker, Dextrose und Maltose nachgewiesen habe, und auf die gärungshemmende, die Thätigkeit des Protoplasmas hindernde Wirkung der in der gärenden Flüssigkeit sich anhäufenden Ausscheidungsprodukte, gegen welche Hefe Saaz eine größere Empfindlichkeit besitze als Frohberg, zurückgeführt.

Ich befand mich mit dieser Anschauung, wie aus den Abhandlungen von Arminius Bau, Munsche, Delbrück, Windisch u. A. hervorgeht, mit den genannten Zymotechnikern im Widerspruche: dieselben nahmen auf Grund der Versuche von Arminius Bau und Munsche an, daß der von der Hefe Saaz bei der Gärung übrig gelassene, unter den von ihnen gewählten Versuchsbedingungen unvergärbare Zuckerrest eine besondere Modifikation der Isomaltose bilde, daß also beim Maischen zwei Isomaltosen entstehen, welche stereochemisch isomer sein sollen. Die eine, durch Hefe Saaz und Frohberg vergärbare Isomaltose wurde α-Isomaltose, die andere, durch Saaz nicht, wohl aber durch Frohberg vergärbare, wurde β-Isomaltose bezeichnet. Nach dieser Ber-

---

1) Bayerisches Bräuer-Journal. Bd. IV. 1894. p. 577 u. f. und Bd. V. 1895. p. 109.

liner Hypothese wäre die bei der Einwirkung von Diastase auf Stärke gebildete Lintner'sche Isomaltose kein einheitlicher Körper, weil dieselbe durch Hefe Saaz nur teilweise — unter den von der Berliner Station gewählten Bedingungen — vergärbar ist.

Nachdem Emil Fischer und Lintner nachgewiesen hatten, daß die Hefen neben dem Invertin auch ein Maltose und Isomaltose spaltendes Enzym — die Hefeglukase — enthalten, nahmen Delbrück, Munsche, Bau, Windisch u. A. an, die Unvergärbarkeit der sogenannten β-Isomaltose durch Hefe Saaz bezw. deren Vergärbarkeit durch Hefe Frohberg beruhe darauf, daß ersterer das die β-Isomaltose spaltende Enzym fehle, letztere aber auch ein solches, außer Invertin und dem Maltose und α-Isomaltose spaltenden, mithin drei Enzyme, enthalte.

Auf diese Hypothesen gründete Arminius Bau eine Einteilung der Hefen in physiologisch verschiedene Gruppen, worüber er sich in seiner Abhandlung „Der Sammelbegriff Saccharomyces cerevisiae"[1]) näher verbreitet.

Ich habe diese Einteilung für verfrüht gehalten, weil weder Bau noch die genannten Chemiker an der Berliner Station den Beweis für die Existenz der β-Isomaltose erbracht hatten.

Auch die gegenteiligen, durch nichts bewiesenen Behauptungen Munsche's in seiner Kritik meiner Erklärung der Gärungserscheinungen[2]) konnten mich nicht von der Richtigkeit der Berliner Hypothese überzeugen, wie aus meiner Erwiderung auf die Angriffe Munsche's hervorgeht[3]).

Inzwischen habe ich über diesen Gegenstand weitere Versuche angestellt und dadurch experimentell meine Ansicht, sowie die Unrichtigkeit der erwähnten Hypothesen von Delbrück, Bau, Munsche, Windisch u. A. bewiesen.

Es ist mir nämlich gelungen, die in den Bierwürzen enthaltenen Zucker, insbesondere die Isomaltose, sowohl durch Hefe Frohberg als auch Hefe Saaz so gut wie vollständig zu vergären.

Die Vergärung der Zucker sowohl durch Hefe Frohberg als auch durch Hefe Saaz gelingt, wenn die Würze mit sehr viel Hefe versetzt (100 ccm Würze + ca 20 g abgepreßte Hefe) und die Gärung bei 31—33° in einem lebhaften Luftstrome unter gleichzeitiger Herstellung eines Vakuums in der Weise geführt wird, daß die flüchtigen Gärungsprodukte (Kohlensäure, Alkohol, flüchtige Säuren etc.) stets überdestillieren und eine stetige Konzentration der gärenden Flüssigkeit stattfindet, welche so zu regulieren ist, daß während der 6—7 Tage andauernden Gärdauer alle 12 Stunden etwa die Hälfte der Flüssigkeit überdestilliert ist,

1) Wochenschrift für Brauerei. 1894. No. 43. p. 1366.
2) Wochenschrift für Brauerei. 1895. No. 7. p. 141.
3) Bayerisches Brauerjournal. 1895. p. 109.

welche jedesmal durch steriles Wasser wieder ersetzt werden muß.

Nur so gelingt es, die hohe Vergärung zu erreichen. Die Lüftung allein führt nicht zum Ziele, ebensowenig die Erhöhung der Gärtemperatur und die teilweise Abfuhr der flüchtigen Gärungsprodukte.

Es sind demnach die flüchtigen Gärungsprodukte, welche im Vereine mit dem geringen Durchlässigkeitsvermögen die Vergärbarkeit der Zucker, bezw. der Isomaltose durch Hefe Saaz erschweren und nicht die nichtflüchtigen Gärungsprodukte oder die sonstigen Bestandteile der unvergorenen und vergorenen Würze.

Ich werde den Einfluß der Gärungs- bezw. Stoffwechselprodukte weiter studieren und auch auf die übrigen Hefen ausdehnen. Es ist nicht unwahrscheinlich, daß man durch Zusatz der isolierten Stoffwechselprodukte der Hefen oder anderer Mikroorganismen die Würzen für gewisse Hefen u. s. w. immunisieren kann, wodurch sich für die physiologische Forschung im Sinne der Lehre Hansen's von der planmäßigen Auswahl reingezüchteter Heferassen neue, für die Praxis wichtige Aussichtspunkte eröffnen.

In Nachstehendem gebe ich einige der Resultate bekannt, wie sie bei der Vergärung einer ungehopften Malzwürze aus bayerischem Malze unter verschiedenen Bedingungen erhalten worden sind.

Die Zahlen geben an, wie viel Gewichtsteile Gesamtzucker von 100 Gewichtsteilen Würzezucker, Maltose, Isomaltose, Dextrose und Lävulose, welche als Rohmaltose vor und nach der Gärung zusammen bestimmt wurden, vergoren worden sind.

Die Saccharose blieb unberücksichtigt, da dieselbe unter allen Verhältnissen leicht und vollständig vergärt.

	Hefe Frohberg	Hefe Saaz	
Es vergären bei 25° C im Thermostaten nach 6 Tagen	87,99 Proz.	78,18 Proz.	Würzezucker
Es vergären bei 31—33° C, starker Lüftung und teilweiser Abfuhr d. Gärungsprodukte nach 5 Tagen	—	79,16 „	„
Es vergären bei 31—33° C, starker Lüftung und teilweiser Abfuhr d. Gärungsprodukte nach 7 Tagen	—	82,87 „	„
Es vergären bei 31—33° C, starker Lüftung und möglichst vollständiger Abfuhr der Gärungsprodukte nach 6 Tagen	95,92 Proz.	89,00 „	„

Diese Zahlen sprechen für sich selbst. Zu bemerken ist noch, daß der bei Hefe Frohberg zurückgebliebene, als Maltose bestimmte Zuckerrest des letzten Versuchs nicht oder nur zum geringsten Teile auf das Reduktionsvermögen von Zucker, sondern in der Hauptsache auf das Reduktionsvermögen von Dextrin und anderen Würze-

bestandteilen zurückzuführen ist, da vermittelst Phenylhydrazin Osazone nicht abgeschieden werden konnten.

Ferner ist sehr bemerkenswert, daß aus dem nach der Gärung mit Hefe Saaz beim letzten Versuche zurückgebliebenen unvergärbaren Würzeanteile vermittelst der Phenylhydrazinprobe nur sehr geringe Mengen eines Osazons in der Hitze abgeschieden wurden, welche auf Maltosazon oder Dextrosazon schließen lassen, während Isomaltose nicht nachgewiesen werden konnte. Letztere war daher nur noch höchstens in Spuren vorhanden.

Dieser Umstand ist nicht nur beweisend für die völlige Vergärbarkeit der Würzeisomaltose durch Hefe Saaz, sondern auch für die von Lintner gemachte Beobachtung, daß Isomaltose leichter hydrolisiert wird als Maltose, sowie für meine ausgesprochene Ansicht, daß die schwierigere Vergärbarkeit der Isomaltose, von obigen Einflüssen abgesehen, in dem geringeren Diffusionsvermögen derselben liegt, wodurch die im Innern der Zelle von statten gehende Hydrolyse der Isomaltose eine Verzögerung gegenüber derjenigen der Maltose erleidet.

Es ist sehr wahrscheinlich — und weitere Versuche werden dies bestätigen — daß sich der bei Hefe Saaz unvergoren gebliebene wahrscheinliche Maltoserest bei längerer Gärdauer als 6 Tage unter den gewählten Versuchsbedingungen — starke Lüftung und vollständige Abfuhr der flüchtigen Stoffwechselprodukte — ganz vergären läßt wie bei Frohberg [1]).

Aus den Versuchen sind nachstehende Schlüsse zu ziehen:

1) Die in den Malzwürzen enthaltene Isomaltose Lintner's ist in physiologischem Sinne ein einheitlicher Körper, da derselbe von den in der Gärungsindustrie gebräuchlichen Kulturhefen und auch von Hefe Saaz, sowie von den Pastorianusarten und Ellipsoïdeen vergoren wird.

2) Die Hypothese von Arminius Bau, welcher sich Delbrück, Munsche, Windisch u. A. angeschlossen haben, daß der in den durch Hefe Saaz unter den üblichen Bedingungen vergorenen Bierwürzen verbleibende unvergärbare Isomaltoserest eine besondere Modifikation der Isomaltose, sogenannte β-Isomaltose, und mit dem vergärbaren Anteile, der α-Isomaltose, stereochemisch isomer sei, kann nicht mehr aufrecht erhalten werden.

3) Die Hypothese der Berliner Versuchsstation u. a., die Hefen vom sogenannten Typus Frohberg enthielten ein drittes, die angenommene β-Isomaltose spaltendes Enzym, ist durch meine Versuche widerlegt.

4) Die diesbezüglichen Aeußerungen des Assistenten Delbrück's, Munsche, in seiner Kritik meiner Erklärung der Gärungserscheinungen sind samt und sonders irrige.

---

1) Während der Drucklegung dieser Arbeit ist es gelungen, auch mit Hefe Saaz die Würze ebenso weit zu vergären wie mit Hefe Frohberg, so daß der von der Berliner Station stets betonte „Unterschied zwischen den beiden Hefen im Vergärungsgrade unter allen Verhältnissen“, worauf die Bau'sche Hypothese von den beiden Isomaltosen beruht, thatsächlich nicht vorhanden ist.

5) Die Einteilung der Hefen auf der von Arminius Bau in seiner Abhandlung über den Sammelbegriff Saccharomyces cerevisiae gewählten physiologischen Grundlage ist unhaltbar.

6) Die Hefen Frohberg und Saaz sind in gärungsphysiologischem Sinne, soweit ihr Verhalten gegen die Würzezucker in Betracht kommt, keine Hefetypen.

7) Die von Delbrück, Bau, Munsche und Windisch u. A. empfohlene und vielfach angewandte gärungsphysiologische Methode vermittelst der Hefen Frohberg und Saaz zur Ermittelung der Würzezusammensetzung, der Zusammensetzung des Bierextrakts etc. liefert keine sicheren Resultate und ist keine exakte wissenschaftliche Methode, da der Endvergärungsgrad mit den Bedingungen wechselt, der höchst mögliche Vergärungsgrad nach dem bisherigen Verfahren nicht erreicht wird und der unvergoren gebliebene Zuckerrest qualitativ verschieden ist.

8) Die von Delbrück und seinen Mitarbeitern aus ihren gärungsphysiologischen Untersuchungen vermittelst der Hefen Saaz und Frohberg gezogenen Schlüsse sind, soweit sie überhaupt noch aufrecht erhalten werden können, gemäß dem sub 7 Gesagten entsprechend zu berichtigen.

Ich werde demnächst meine Methode, sowie den von mir bei den Versuchen verwendeten Apparat eingehend beschreiben und die vorstehenden Schlußfolgerungen mit kurzer geschichtlicher Entwickelung über die Entstehung des Begriffes der Hefentypen Frohberg und Saaz näher begründen.

Referate.

Kayser, M. E., Etudes sur la fermentation lactique. (Annales de l'Institut Pasteur. 1895. p. 737.)

In dem ersten Teile der sehr ausführlichen Arbeit beschreibt Verf. folgende 15 teils bekannte, teils neu entdeckte Organismen, welche er alle unter denselben Verhältnissen auf den gleichen flüssigen und festen Nährböden züchtet.

Um die Energie des Wachstums, bezw. die Dicke der Kulturen auf festen Nährböden zu bezeichnen, hat Verf. eine empirische Skala, welche die Zahlen 1—10 enthält, eingeführt.

Ferment a. Aus Rahm gezüchtet; bildet auf Malzdekoktgelatine einen schmalen Streifen, entsprechend No. 3, auf Nähragar eine schwache Zeichnung mit schuppenartigen Streifen, entsprechend No. 2 der Skala. Macht die Milch in sehr fester Form gerinnen, bei 28—30° C nach 20—24 Stunden. In Zwiebelabsud bildet es Ketten von 4, 6 bis 8 Gliedern.

Ferment b. Aus Rahm gezüchtet. Bildet auf Malzdekoktgelatine Streifen, in der Stärke No. 6 der Skala entsprechend, auf Nähragar eine linienförmige Kultur, entsprechend No. 5. Macht

die Milch in sehr fester Form gerinnen, bei 28—30° C nach 24 Stunden. In Zwiebelabsud bildet es längere Ketten als a, mit bis zu 12 Gliedern.

Ferment c. Aus Rahm gezüchtet. Bildet auf Malzdekoktgelatine einen dünnen Streifen, No. 3 entsprechend; auf Nähragar eine gleichstarke, milchweiße Auflagerung. Es macht die Milch sehr fest gerinnen, bei 28—30° C nach 24 Stunden. Auf Zwiebeldekokt bildet es Ketten von 3—4 Gliedern, kleiner als a und b.

Ferment d. Bacillus Guillebeau c. Bildet auf Malzdekoktgelatine einen No. 9 entsprechenden Streifen, auf Nähragar einen dicken, rahmartigen Schleim, entsprechend No. 10. Er bildet in Milch ein körniges Gerinnsel mit viel Serum; macht die Milch bei 28° C nach 36 Stunden gerinnen. In Zwiebeldekokt zeigt er Ketten von 2—4 Gliedern, welche dicker sind als die der Fermente a, b und c.

Ferment e. Bacillus Bischleri. Bildet auf Malzdekoktgelatine einen ununterbrochenen Streifen, entsprechend No. 6, auf Nähragar linienförmiges Wachstum, entsprechend No. 5. Er bildet in Milch körnige Gerinnung; macht die Milch bei 28° C nach 84 bis 90 Stunden gerinnen. Auf Zwiebeldekokt bildet er Ketten von 4 bis 6 Gliedern, welche etwa 4 μ lang und 3 μ breit sind.

Ferment f. Bacillus aërogenes. Er bildet auf Malzdekoktgelatine einen No. 9 entsprechenden Streifen; auf Nähragar einen dicken, rahmartigen Schleim, entsprechend No. 10. Die in Milch entstehenden körnigen Gerinnsel ziehen sich fest zusammen; die Gerinnung der Milch tritt bei 28° C in 36 Stunden ein. In Zwiebeldekokt zeigt er zahlreiche lange Ketten von 10—12 Gliedern, welche etwas kleiner als diejenigen des Bacillus Guillebeau sind.

Ferment g. Freudenreich'scher Bacillus α. Er bildet auf Malzdekoktgelatine einen runzeligen Streifen, entsprechend No. 5; auf Nähragar eine milchweiße, No. 3 entsprechende Kultur. Die durch seinen Einfluß geronnene Milch ist wenig fest; er macht die Milch bei 28° C nach 72—84 Stunden gerinnen. In Zwiebelabsud bildet er sehr lange Ketten von 15—18 Gliedern.

Ferment h. Aus Roggeninfus gezüchtet. Es bildet auf Malzdekoktgelatine einen runzeligen, No. 5 entsprechenden Streifen; auf Nähragar einen äußerst dünnen Streifen, entsprechend No. 1. Es macht die Milch bei 28° C nach 100—120 Stunden gerinnen. In Zwiebeldekokt bildet es Ketten von 4—5 Gliedern, etwa von der Ausdehnung wie die unter a, b und c verzeichneten Organismen.

Ferment l. Aus Brennereimaische gezüchtet. Es bildet auf Malzdekoktgelatine einen zusammenhängenden, No. 4 entsprechenden Streifen; auf Nähragar eine linienförmige Kultur, entsprechend No. 5. Es macht die Milch in sehr fester, zusammengepreßter Form bei 28° C nach 30 Stunden gerinnen. In Zwiebelabsud bildet es Ketten von 2 Gliedern.

Ferment m. Aus Brennereimaische gezüchtet. Es bildet auf Malzdekoktgelatine einen dünnen Streifen, entsprechend No. 4; auf Nähragar zeigt es glattes Wachstum in Form eines schmalen Streifens, entsprechend 1, 5. Es macht die Milch wie der vorige Organismus gerinnen, braucht jedoch bei 28° C 48—60 Stunden dazu.

Es bildet in Zwiebelabsud sehr lange, gewundene Ketten von 12 bis 15 Gliedern.

Ferment n. Aus Sauerkrautbrühe gezüchtet. Es bildet auf Malzdekoktgelatine einen sehr dicken Streifen, No. 10 entsprechend; auf Nähragar einen ausgebreiteten Schleier, entsprechend No. 8. Es macht die Milch mäßig fest gerinnen, bei 28° C in 60 Stunden. In Zwiebelabsud bildet es lange Ketten von 20 und mehr Gliedern,

Ferment o. Aus belgischem Biere gezüchtet. Es bildet auf Malzdekoktgelatine einen dünnen, No. 3 entsprechenden Streifen; auf Nähragar eine milchweiße Kultur derselben Stärke. Es macht Milch bei 28° C in 72 Stunden fest gerinnen. In Zwiebelabsud bildet es Ketten von 20 Gliedern.

Ferment p. Aus belgischem Biere gezüchtet. Bildet auf Malzdekoktgelatine einen runzeligen Streifen, entsprechend 5, 5 der Skala; auf Nähragar zeigt es nur schwaches Wachstum in Form eines schuppigen Streifens, entsprechend No. 2. Es macht die Milch bei 28° C nach 72—84 Stunden in sehr fester Form gerinnen. Auf Zwiebeldekokt bildet es Ketten von 15—20 Gliedern.

Ferment r. Aus Rahm (Kopenhagen) gezüchtet. Es macht die Milch bei 28° C in 30 Stunden fest gerinnen; bildet Ketten von 6—8 Gliedern und ähnelt in flüssigen Nährböden dem Ferment b.

Ferment s. Bacillus der kontagiösen Euterentzündung. Er macht die Milch bei 28° C in 30 Stunden fest gerinnen. In flüssigen Nährböden zeigt er sich in Form von isolierten, zu je zweien angeordneten oder Ketten bildenden Kokken.

Alle diese Fermente besitzen sehr verschiedene Eigenschaften. Sie zeigen z. B. sehr verschiedene Beständigkeit der Wärme gegenüber. So vertragen z. B. die Fermente a, b, c, r, welche aus Rahm gezüchtet sind, nicht 5 Minuten lang eine Temperatur von 60° C, während die Fermente g, s, n, m, o, p und ganz besonders d in dieser Hinsicht sehr widerstandsfähig sind. Diese Widerstandsfähigkeit ist ebensowohl von dem Säuregehalte des Mediums abhängig, in welchem sie erhitzt worden sind, als auch von der mehr oder weniger beträchtlichen Säure oder Alkalität der Milch, welche zu den Versuchen gedient hat.

Die verschiedenen Fermente unterscheiden sich auch durch die Temperaturen, bezw. die Zeiten, innerhalb welcher sie die Milch gerinnen machen. Keiner der Organismen machte die Milch bei 10° C gerinnen, auch nicht bei 35 Tage dauernder Einwirkung; manche derselben (d, e, f, g, h) ließen die Gerinnung auch bei 15° C nicht eintreten. Die Fermente e, g und h machten die Milch bei 40° C und 45° C nicht gerinnen (Versuchsdauer 8 Tage); wurden die Proben aber nun in 30° C gebracht, so trat Gerinnung ein. Bei 45° C hatten nur die Fermente d, f und l diese Wirkung; in den Proben mit den Fermenten m, o und p trat Gerinnung ein, wenn sie aus der Temperatur von 45° C in 30° C gebracht wurden, sie waren also nicht abgetötet. Abgesehen von den Fermenten d und f liegt das Temperaturoptimum für die übrigen Organismen bei 30—35° C. Weder durch Austrocknung noch durch den Einfluß des Lichtes während

dreier Monate büßten alle die genannten Fermente die Fähigkeit ein, Milch gerinnen zu machen.

Bei der milchsauren Gärung fand Verf. von Gasen nur Kohlensäure, von nicht gasförmigen Produkten Milchsäure und Essigsäure, Spuren von Ameisensäure, Aceton und Alkohol. Bernsteinsäure wurde niemals gefunden. Die Mengen der gebildeten fixen und flüchtigen Säuren sind, wie aus den angeführten Tabellen hervorgeht, bei den verschiedenen Fermenten, wie auch bei demselben Fermente in verschiedenen Nährböden sehr wechselnde. Die Säurebildung findet im höchsten Maße in neutralen Nährböden statt; sie steigt bei manchen Fermenten konstant, bei anderen sinkt sie von einem gewissen Punkte an, um dann wieder zu steigen, oder kleine Bewegungen um eine bestimmte Grenze zu machen. Das Gleiche gilt für die flüchtigen Säuren. Bei manchen Fermenten nimmt die Gesamtsäure mit der Dauer des Versuches zu, während die fixen Säuren ständig abnehmen und schließlich nur Essigsäure übrig bleibt.

Bezüglich des Alters der Kulturen ist zu bemerken, daß die einen Monat alten von kräftigerer Wirkung sind als ganz junge Kulturen. Jene verlieren aber von diesem Alter an mehr oder weniger schnell ihre Wirksamkeit, abhängig von dem Nährboden, in welchem sie sich befanden. Sie degenerieren in Zwiebelabsud ohne Kreidezusatz schneller, als in einem aus Rüben hergestellten Nährboden.

Unter den Fermenten finden sich aërobe, anaërobe und solche, welche unter beiden Bedingungen gedeihen und wirken können.

Um den Einfluß mehr oberflächlicher, bezw. tiefer Kulturen zu bestimmen, machte Verf. Parallelversuche, in welchen einmal die Nährflüssigkeit in Kolben mit breitem Boden, im anderen Falle in langen und schmalen Röhrchen gehalten wurde. Dabei zeigte sich, daß bei den oberflächlichen Kulturen hauptsächlich flüchtige Säuren (Essigsäure), bei tiefen Kulturen dagegen fixe Säuren im Verhältnisse von 85—95 Proz. des verbrauchten Zuckers entstehen. Die verschiedenen Fermente verhalten sich auch in dieser Hinsicht verschieden.

Was die Form anlangt, in welcher Stickstoff im Nährboden enthalten ist, fand Kayser, daß sämtliche Fermente das Pepton allen übrigen Stickstoffkörpern vorziehen. Mit dem Gehalte an jenem steigt bis zu einem gewissen Grade die Menge an gebildeten fixen Säuren, während die flüchtigen Säuren nur wenig abhängig sind vom Stickstoffgehalte des Nährbodens überhaupt. Von geringerer Bedeutung als die Bereicherung des Nährbodens an Pepton ist die Vermehrung des Zuckers in demselben. Jedes Ferment scheint gewisse Zuckerarten anderen vorzuziehen; dasselbe Ferment kann aber mit demselben Zucker verschiedene Säuren bilden, während manche Fermente mit verschiedenen Zuckern die gleiche Säure bilden können.

Gerlach (Wiesbaden).

Kabrhel, G., Zur Frage der Stellung des Kaseïns bei der Milchsäuregärung. (Zeitschr. f. Hygiene. 1895. p. 392.)

Obwohl Timpe Verf.'s Behauptung, nach welcher die in der Milch sich bildende Milchsäure mit dem Kaseïn der Milch eine

chemische Verbindung eingeht, wodurch ihre den weiteren, von den Mikroorganismen abhängigen Gärungsvorgang hemmende Einwirkung beseitigt wird, anerkennt, so stellt er sie doch als nicht experimentell fundiert dar. Verf. hat aber in seiner Abhandlung eine Versuchsreihe angeführt, welche diesen Einwand ausschließt und aus welcher hervorgeht, daß die Milchsäure auf das Kasein der neutralen Milch chemisch einwirkt, d. h. mit demselben eine chemische Verbindung eingeht, wodurch ein Teil der zugesetzten Milchsäure gebunden wird. Wie und in welcher Weise sich dieser chemische Vorgang abspielt, ob das Alkali des Kaseïns oder auch das des Alkalis beraubte Kaseïn dabei im Spiele ist, diese Frage wurde erst durch die Versuche Timpe's in Angriff genommen. A. Stift (Wien).

Friis, F., Lunde, H. P., Storch, V. u. A., Syrningsforsög. (Sammenligning mellem Handelssyrevækkere og Kjærnemælk fra gode Mejerier.) (32te Beretning fra den kgl. Veterin.- og Landbohöjskoles Laboratorium for landökonomiske Forsög. Kjøbenhavn 1895.)

Eine historische Uebersicht über die Entwickelung der Rahmsäuerungsmethoden in Dänemark von der ältesten Selbstsäuerung zu der durch die Arbeiten von V. Storch hervorgerufenen Anwendung von Reinkulturen zeigt, daß von den auf den dänischen Butterausstellungen ausgestellten Buttermarken in 1891 4 Proz. sämtlicher Marken mittels der im Handel dargebotenen Reinkulturen dargestellt waren; bei der vorjährigen Butterausstellung in Aarhus war diese Zahl auf 84 Proz. gewachsen.

Die im Berichte beschriebenen Versuche bezweckten eine Beantwortung der Frage, ob die im Handel gehenden sog. „Reinkulturen" oder „Normalsäurewecker" so beschaffen sind, daß sie in keiner Beziehung die Qualität der Butter verringern. Die Versuche wurden ausgeführt in den Jahren 1891—94 zu allen Jahreszeiten, und zwar sowohl in der Genossenschaftsmolkerei zu Sönderby, wie in der Gutsmolkerei Egeskov. Die Säuerung der mit einander zu vergleichenden Portionen desselben Rahmes wurde vorgenommen außer mit den Handelskulturen von Qvist, von Blauenfeldt und Tvede, von Zoffmann und von Chr. Hansen, auch mit der eigenen Buttermilch der betreffenden Molkerei, sowie mit einer von einer anderen rühmlichst bekannten Molkerei herbeigeschafften Buttermilch. Die Handelskulturen wurden nach der von den Fabrikanten gegebenen Gebrauchsanweisung genau behandelt, und es wurden behörige Kautelen genommen, daß nicht die verschiedenen mit einander zu vergleichenden Portionen von einander infiziert wurden. Die Reinkulturen wurden meist vor der Benutzung 1—2mal umgeimpft; die in trockener Pulverform käuflichen Kulturen (von Chr. Hansen und von Blauenfeldt und Tvede) wurden stets 3mal umgeimpft, ehe sie benutzt wurden.

Durch Titrierungen mittels $^1/_{10}$ normaler Lauge oder mit gesättigtem Kalkwasser wurde das Fortschreiten des Säuerungsprozesses überall kontrolliert. Das als Exportbutter behandelte Produkt wurde

in allen Versuchen in genau gleicher Weise behandelt und drei von einander gänzlich unabhängigen Beurteilungen dreier verschiedener Butterhändler unterworfen. Diese Qualitätsuntersuchung wurde für jede Versuchsserie nach Verlauf von 14 Tagen in derselben Weise wiederholt, um sich von der Haltbarkeit der Butterproben zu überzeugen.

Als Resultat der Untersuchungen ging hervor, daß sämtliche benutzten käuflichen Reinkulturen sich in ihren Wirkungen gleich verhielten. Weiter war die nach Säuerung mittels käuflicher Reinkulturen erzielte Butter ebenso fein und ebenso haltbar wie die Butter, die zur gleichen Zeit aus demselben Rahm in derselben Molkerei dargestellt wurde unter Benutzung von Buttermilch aus Wirtschaften, die feine Ware lieferten.

Besondere Versuchsserien konstatierten, daß die käuflichen Säurewecker durch Umpflanzen, je nach Vorschrift der Fabrikanten, während eines Monats nicht ihre guten Eigenschaften eingebüßt hatten.

Die Butterungsversuche waren von Bestimmungen des Fettgehaltes der Buttermilch, sowie von Wasserbestimmungen der Butter und von Feststellen des quantitativen Buttertrages begleitet, woraus sich ergab, daß die genannten Größen in keiner Weise durch die Natur des Säuerungsmittels in den vorliegenden Versuchen beeinflußt wurde.

John Sebelien (Aas in Norwegen).

Schiönning, H., Nouvelle et singulière formation d'ascus dans une levure. (Compte rendu des travaux du laborat. de Carlsberg. Vol. IV. Livr. 1. Copenhague 1895. Avec 3 figures dans le texte.)

Die vom Verf. besprochene Hefeart wurde auf Rosinen gefunden. Die vegetative Vermehrung derselben geschieht durch Abspaltung, und zwar durch deutlich hervortretende Querwände, ebenso wie von Hansen bei Sacch. Ludwigii gezeigt. Wie bekannt, hat Lindner sein Genus Schizosaccharomyces auf eine Art, S. Pombe, aufgestellt; eines der Hauptmerkmale dieses neuen Genus ist gerade diese Abspaltung. Später teilte Beyerinck mit, daß derselbe Vorgang sich auch bei seinem Schizosacch. octosporus findet, aber weder der letztgenannte Verfasser noch Lindner erwähnen die nahe Verwandtschaft ihrer Arten mit Sacch. Ludwigii und daß Hansen schon im Jahre 1891 auf die obengenannte Vermehrungsweise bei letzterer aufmerksam gemacht hatte.

Verf. hat in feuchter Kammer die einzelne Zelle in ihrer Entwickelung und Umbildung in Ascus verfolgt. Der folgende merkwürdige Vorgang findet unter diesen Umständen statt: Die Zelle wird anfangs der Länge nach größer und es bildet sich eine Querwand. Nach kurzer Zeit geschieht eine Abspaltung durch dieselbe und die zwei dadurch neugebildeten Zellen bleiben nahe aneinander liegend, indem sie sich in einem Punkte berühren. Diese zwei Zellen schmelzen allmählich zusammen, so daß eine

einzige Zelle entsteht, deren Gestalt anfangs stundenglasförmig ist; nach und nach nimmt indessen ihre Größe zu, indem sie sich gleichzeitig stark in der Mitte erweitert und eine ellipsoidische Form annimmt. Während des Wachstums sieht man das Plasma in ununterbrochener langsamer Bewegung. Zuletzt treten die Sporenanlagen hervor, um sich endlich zu reifen Sporen zu entwickeln. Alle Zellen einer Kolonie werden auf diese Weise in Asci umgebildet. Die Anzahl der Sporen ist am häufigsten 8, kann aber auch bis 2 sinken.

Verf. sieht sich nicht imstande, zu entscheiden, ob ein Sexualakt dieser Ascusbildung zu Grunde liege. Ein Studium des Verhaltens des Zellkernes wird hier notwendig sein; dieses ist indessen noch nicht unternommen. Eine andere Möglichkeit liegt auch vor, nämlich daß das Zusammenschmelzen nur denselben morphologischen Wert hat, wie die von Hansen bei Sacch. Ludwigii entdeckten Fusionsbildungen (Zusammenschmelzen der Sporen und ihrer Keimfäden).

Nachdem Verf. Schizosacch. octosporus von Beyerinck empfangen hatte, beobachtete er bei dieser Art ganz dieselbe Ascusbildung. Dieses steht indessen ganz im Widerspruche mit der Angabe Beyerinck's, indem letzterer ausdrücklich mitteilt, daß der Ascus hier durch Vergrößerung einer einzelnen Zelle gebildet wird. Ebenso sagt er, daß dieselbe konstant 8 Sporen enthält; Verf. aber beobachtete im Materiale Beyerinck's ganz dasselbe inkonstante Verhalten, was die Sporenanzahl betrifft, wie für seine eigene Art. Die morphologischen Charaktere der Beyerinck'schen Art stimmen mit denjenigen der in dieser Abhandlung besprochenen überein; es scheint also, als ob die zwei Arten identisch sind.

Diese neue, vom Verf. entdeckte Ascusbildung giebt Grund, anzunehmen, daß, falls ein Sexualakt sich überhaupt bei den Pilzen finde, es wohl hier sein muß. Beyerinck gelangte indessen zu dem entgegengesetzten Resultate; er spricht sich nämlich auf folgende Weise aus: „Nirgendwo ist es klarer wie hier, daß der Ascus und die Ascosporen ohne einen Sexualakt entstehen.“ Er beging ja auch den Irrtum, anzunehmen, daß der Ascus sich aus einer einzelnen Zelle entwickele.

Schiönning's Abhandlung ist von drei guten Holzschnitten begleitet, welche auf eine instruktive Weise sowohl die überaus interessante Ascusbildung als auch die vegetativen Zellen der Art illustrieren. Klöcker (Kopenhagen).

Prior, E., Physikalisch-chemische Erklärung der Gärungserscheinungen. Erwiderung auf die Abhandlung von Munsche in der Wochenschr. für Bierbrauerei. 1895. p. 141 u. f. „Zur Frage der Vergärbarkeit bezw. Nichtvergärbarkeit der Isomaltose durch die Hefen Frohberg und Saaz, zugleich kritische Bemerkungen zu der von Prior in seiner Abhandlung „„Ueber die Umstände, welche den Vergärungsgrad des Bieres bei der Haupt- und Nachgärung bedingen““ gegebenen Erklärung der Gärungserscheinungen.“ (Bayerisches Brauerjournal. 1895. p. 97 u. f.)

Die vom Verf. vor einiger Zeit gegebene Erklärung der Gärungserscheinungen auf physikalisch-chemischem Wege[1]) hatte Munsche Veranlassung gegeben, diese Arbeit einer kritischen Besprechung zu unterwerfen. Bekanntlich ist der Endvergärungsgrad der Hefen vom Typus Saaz ein niederer als der von Frohberg; während Prior nun das unterschiedliche Verhalten der beiden Hefen auf physikalische Vorgänge zurückführt, ist Munsche der Ansicht Arminius Bau's, welcher die Isomaltose der Bierwürze als keinen einheitlichen Körper ansieht, sondern als ein Gemisch von 2 Isomeren, deren eine, die α-Modifikation, von US und OS (d. h. Hefen vom Typus Saaz unter- und obergärig) vergoren, die zweite, die β-Modifikation, aber nicht vergoren wird. Letztere ist jedoch noch nicht rein dargestellt, der einzige bis jetzt bekannte Unterschied beider Modifikationen besteht nur in dem verschiedentlichen Verhalten gegenüber den Hefen vom Typus Saaz. Solange keine weiteren Unterschiede zwischen der β-Modifikation und der Lintner'schen Isomaltose festgestellt sind, bezweifelt Verf. die Existenz dieses Zuckers, zumal da auch Fischer nachgewiesen hat, daß die Hefen demselben Zucker gegenüber bezüglich der Gärung sich verschieden verhalten können[2]).

Wäre derselbe jedoch vorhanden, könnte er durch das Invertin der Hefen Saaz nicht umgewandelt werden, es müßte demnach neben dem Saccharose und Maltose sowie α-Isomaltose spaltenden Enzym in den Hefen vom Typus Frohberg noch ein weiteres, das die β-Isomaltose spaltende, vorhanden sein. Aber auch unter den Hefen vom Typus Frohberg befinden sich solche, welche in der Hauptgärung niederer vergären als die Hefe Saaz; erst kürzlich wurde eine vom Direktor Thausing eingesandte Hefe untersucht, welche ihrem physiologischen Verhalten nach dem Typus Frohberg eingereiht werden mußte, obwohl sie im Betriebe 10 Proz. Wiener Würzen nur auf 38—40 Proz. scheinbar vergor.

Da nun mit den chemischen Kenntnissen allein die Gärungserscheinungen nicht zu erklären sind, hat Verf. die physikalischen Kräfte mit hinzugezogen und folgende Faktoren zur Erklärung aufgestellt:

1) Das Durchlässigkeitsvermögen der Hefen bezw. ihrer Zellmembran;

2) das Vermehrungsvermögen der Hefen;

3) das Diffusionsvermögen der Würzebestandteile bezw. Hefenährstoffe (Zuckerarten, Stickstoffsubstanzen und Salze);

4) die Enzymwirkung der Hefen.

Als weitere fügt Verf. hinzu:

5) das Vermögen der Hefen, Pilzschleim auszuscheiden;

6) das Oxydationsvermögen bezw. Sauerstoffabsorptionsvermögen der Hefen.

Man ist berechtigt, anzunehmen, daß das Durchlässigkeitsvermögen der verschiedenen Hefen ein verschiedenes ist, des gleichen, daß

1) Bayerisches Br.-Journal. 1894. p. 469.

2) Ber. d. deutsch. chem. Ges. 1894. p. 2033 u. f.

die Membranen junger Zellen weniger dicht und durchlässiger sind, als die der älteren. Bezüglich dieses Punktes stimmt Munsche mit Verf. überein, glaubt jedoch, daß die Annahme, das Durchlässigkeitsvermögen bezw. die Gärungsenergie nehme mit der Erhöhung der Temperatur zu und mit der Erniedrigung ab, für Hefe Saaz nicht den thatsächlichen Verhältnissen entspreche. Diese zeigt bei niederer Temperatur eine energischere Angärung als Hefe Frohberg, die Enzymausscheidung müßte demnach in diesem Falle eine reichlichere sein als bei Hefe Frohberg, und infolgedessen müßte auch eine vollständigere Inversion sämtlicher Würzezucker, d. h. eine höhere Vergärung erzielt werden.

Munsche hat jedoch das Vermehrungsvermögen unberücksichtigt gelassen.

Die Kraftleistung des Plasmas ist eine zweifache:

1) Zucker in Alkohol zu zerlegen;

2) neue Zellen aus den Nährstoffen aufzubauen.

Für erstere schlägt Verf. den Ausdruck „Gärungsenergie" vor, für letztere „Vermehrungsenergie".

Den Anstoß oder die Auslösung zur gesamten Kraftleistung geben die molekularen Bewegungen der Nährstoffmoleküle, wahrscheinlich im Vereine mit den neben der Gärung verlaufenden Oxydationsprozessen. Letztere sind wahrscheinlich nur auf einen Teil der Gärung beschränkt, die beim Zerfalle des Zuckers in CO_2 und Alkohol freiwerdende lebendige Kraft bewirkt nun wieder die Fortdauer der molekularen Bewegung der Nährstoffmoleküle, bezw. die zur Fortdauer der Gärung notwendigen Auslösungen von Gärungsenergie und Vermehrungsenergie. Es kann nun sehr wohl möglich sein, daß bei niederer Temperatur bei Hefe Saaz die Gärungsenergie, bei Hefe Frohberg dagegen die Vermehrungsenergie eine größere ist, d. h. daß im Anfange der Gärung die Hefe Frohberg eine größere Anzahl Zellen produziert und weniger Zucker zersetzt, als Hefe Saaz, daß jedoch im Laufe der Gärung, nachdem die Vermehrungsenergie befriedigt ist, sie infolge ihres größeren Durchlässigkeitsvermögens und der gebildeten größeren Anzahl junger Zellen die Hefe Saaz überholt. Bei höheren Temperaturen ist das Durchlässigkeitsvermögen und damit auch die Kraftleistung eine größere, als bei niederen; es kann deshalb in diesem Falle die Hefe Frohberg sofort die Oberhand bekommen, obwohl dasjenige der Hefe Saaz ebenfalls zunimmt, aber nicht in dem Maße als bei Frohberg.

Durchlässigkeitsvermögen und Diffusionsvermögen der verschiedenen Zuckerarten stehen nun auch in einem gewissen Zusammenhange, und zwar in der Art, daß die Quantitäten Rohrzucker, welche die Zellmembranen verschiedener Hefen unter gewissen Bedingungen in der Zeiteinheit durchlassen, auch diesen annähernd proportionale Mengen der anderen Zucker im Verhältnisse ihres Diffusionsvermögens durchlassen, wie nachstehende Zahlen zeigen:

	Rohrzucker,	Dextrose,	Maltose
Hefe R (Typus Frohberg)	232,95	166,23	160,82
„ L („ Saaz)	104,84	96,60	74,62

Dieses Resultat beweist, daß der Unterschied des Durchlässigkeitsvermögens bei Dextrose und Maltose dasselbe geblieben ist, daß dasselbe bei Dextrose und Maltose abgenommen hat, und daß die unter den Bedingungen der Meißl'schen Methode vergorenen Mengen der 3 Zuckerarten nur von dem Durchlässigkeitsvermögen der Hefezellen und dem Diffusionsvermögen der Zucker abhängen und die Inversion hierbei ohne Einfluß zu sein scheint, da sonst von der direkt vergärbaren Dextrose mehr hätte vergären müssen, als vom Rohrzucker, der vor der Vergärung durch Invertin gespalten wird. Setzt man die Versuche weiter fort bis zur vollständigen Vergärung der beiden letztgenannten Zuckerarten, so erhält man ein entgegengesetztes Resultat, d. h. die Dextrose ist unter den angegebenen Bedingungen früher vollständig aufgezehrt als die Saccharose, da die Vergärung der bei der Spaltung der letzteren gebildeten Laevulose infolge ihres geringeren Diffusionsvermögens langsamer vor sich geht, als jene der Dextrose.

Die als Durchlässigkeits- und Diffusionsvermögen bezeichneten Vorgänge beruhen auf endosmotischen Gesetzen, durch höhere Temperatur und mechanische Bewegung erfahren diese eine Beschleunigung. Das Diffusionsvermögen der Isomaltose ist zwar noch nicht geprüft, aber da sie ihrem ganzen Verhalten nach den Dextrinen nahe steht, ist Verf. wohl berechtigt, anzunehmen, daß sie das kleinste Diffusionsvermögen hat. Sollte nun auch die β-Isomaltose thatsächlich existieren, könnte es wohl möglich sein, daß deren Diffusionsvermögen zu gering ist, um die weniger durchlässige Membran der Hefen vom Typus Saaz zu passieren, so daß sie weder invertiert noch vergoren werden könnte.

Als weiteres Moment zur Erklärung der Gärungserscheinungen hat Verf. die Pilzschleimbildung angeführt, die von Hansen als Ursache der Bildung unregelmäßiger Klümpchen erkannt wurde. Diese Bildung veranlaßt in der Brauerei die Bruchbildung und Klärung des Bieres. Der Pilzschleim legt sich nun innerhalb und außerhalb oder auch auf beide Seiten der Zellmembran, bildet so eine zweite Membran und beeinträchtigt auf diese Weise das Durchlässigkeitsvermögen.

Als letzten Faktor stellt Verf. das Oxydationsvermögen der Hefen auf. Nach Schützenberger vermögen diese erhebliche Mengen von Sauerstoff zu absorbieren, möglicherweise kann dieses Absorptionsvermögen mit der Gärungsenergie in Beziehung stehen.

Die von Munsche am Schlusse seiner kritischen Bemerkungen aufgestellte Frage, weshalb die bei der ersten Gärung nicht vergorene Isomaltose auch im isolierten Zustande durch Hefe Saaz nicht weiter vergärt, beantwortet Verf. dahin, daß diese Isomaltose noch einen Teil der während der Gärung von Hefe Saaz ausgeschiedenen Produkte enthält, die sich den Mikroorganismen gegenüber als Gift verhalten und deren Lebens- und Entwickelungsprozeß beeinträchtigen. Selbst wenn der bei der ersten Gärung zurückgebliebene Isomaltoserest vom Alkohol befreit, mit Hefewasser versetzt und mit einer frischen Kultur von Saaz geimpft wird, tritt keine

Gärung ein, weil die infolge der schwierigen Diffusion der Isomaltose entwickelte Kraftleistung nicht genügt, um die gärungshemmende, oder richtiger gesagt, die die Lebensthätigkeit des Protoplasmas hindernde Wirkung der in der Flüssigkeit enthaltenen, von der ersten Gärung herstammenden Ausscheidungsprodukte aufzuheben oder zu überwinden. Zu diesen gehören die im Verlaufe der Gärung gebildeten fixen und flüchtigen Säuren; ob die gärungshemmende Wirkung allein von diesen bewirkt wird, oder ob noch andere unbekannte Gärungsprodukte ihren schädlichen Einfluß ausüben, ist noch nicht entschieden. Wenn man annimmt, daß die β-Isomaltose von Bau isoliert worden wäre, so ist dieselbe doch schwerlich von sämtlichen Ausscheidungsprodukten getrennt.

Es könnte nur noch der Einwand gemacht werden, daß die Hefe Saaz, wenn zu dem unvergoren gebliebenen Isomaltosereste ein anderer leicht vergärbarer Zucker gesetzt wird, diesen vergärt und deshalb die Ausscheidungsprodukte wirkungslos seien. Ihrer leichten Diffundierbarkeit wegen jedoch veranlassen letztere eine energischere Thätigkeit des Plasmas, wodurch die hemmende Wirkung der vorhandenen Ausscheidungsprodukte überwunden wird.

Daß die gärungsphysiologische Methode der Würzeuntersuchung zur exakten Zuckerbestimmung nicht geeignet ist, daran hält Verf. heute noch fest, denn die Zucker in Gemischen vergären nicht nach einander, sondern neben einander und die Mengen der unvergoren gebliebenen Zucker sind je nach Beschaffenheit und Mengen der Hefezellen, ihrer Ernährung und den Bedingungen, unter denen die Gärung von statten geht, verschieden.

Wiegmann (Nürnberg).

Klöcker, Alb., Recherches sur les Saccharomyces Marxianus, Sacch. apiculatus et Sacch. anomalus. (Compte rendu des travaux du laborat. de Carlsberg. Vol. IV. Livr. 1. Copenhague 1895.)

Ref. hat in verschiedenen Beziehungen Untersuchungen über die Sporenbildung von Sacch. Marxianus Hansen angestellt. So sind die Temperaturgrenzen bestimmt worden; das Maximum wurde zwischen 32° und 34° C gefunden, Optimum zwischen 22° und 25° C und Minimum zwischen 4° und 8° C. Das Aussehen des Sporeninhalts ist wie bei den übrigen wilden Hefen; die Form der Sporen ist am häufigsten eine nieren- oder bohnenförmige, die Länge im allgemeinen 3,5 μ und die Anzahl variiert von 1 bis 4; am häufigsten sind 2 in einer Zelle. Ref. macht auf einen Fehler aufmerksam, welcher sich in E. Fischer's und H. Thierfelder's Abhandlung: „Verhalten der verschiedenen Zucker gegen reine Hefe“ (Ber. d. deutsch. chem. Ges. Jahrg. XXVII. Heft 13) findet, indem diese Verff. daselbst auf einer Stelle in Uebereinstimmung mit Hansen aussprechen, daß die genannte Art nicht die Maltose zu vergären vermag, während sie aber auf einer anderen Stelle das Entgegengesetzte sagen. In Bierwürze bildet Sacch. Marxianus indessen nur 1 Vol.-Proz. Alkohol und eine Maltoselösung wird nicht

vergoren. Als Thierfelder neues Material von dem Carlsberger Laboratorium erhielt, gelangte er auch zu demselben Resultate, nämlich daß die genannte Art nicht imstande ist, die Maltose zu vergären.

Zur Untersuchung kamen drei Varietäten von Sacch. Marxianus, von welchen namentlich die eine nur sehr wenige Sporen nach Züchtung in Bierwürze auf Gipsblöcke gab. Die Sporenbildung tritt indessen schneller und üppiger ein, besonders bei der letztgenannten Varietät, wenn dieselben in Dextrosehefewasser gezüchtet werden. Die Temperaturgrenzen werden jedoch nicht dabei erweitert und die auf diese Weise erworbene Eigenschaft ist auch nicht konstant, wenn die Art wieder in Würze kultiviert wird. Die Veranlassung dieser Untersuchungen war, daß Hansen früher bei der auch nicht maltosevergärenden Hefe, Sacch. Ludwigii, dasselbe Verhalten beobachtet hatte.

Infolge einer Mitteilung von Beyerinck im Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. Bd. XVI. 1894. No. 2. p. 49, daß er bei Sacch. apiculatus Sporen gefunden haben wolle, unternahm Ref. einige Untersuchungen in der genannten Richtung. Beyerinck hatte mitgeteilt, daß man nur die Art aus der Luft oder dem trockenen Staube der Früchte zu isolieren brauchte; man würde dann Kulturen treffen, obwohl selten, in welchen einzelne Zellen zu Ascen mit 4—6 Ascosporen aufgeschwollen seien. Trotz zahlreicher Untersuchungen und Nachforschungen sowohl in der freien Natur als auch in frischen, auf verschiedene Weise angestellten Kulturen gelang es indessen Ref. niemals, etwas bei Sacch. apiculatus zu finden, welches als Sporen aufgefaßt werden konnte. Runde, sporenähnliche Körperchen werden wohl häufig gefunden, sind aber fettartiger Natur; Sporen sind sie jedenfalls nicht.

Im Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. Bd. XVI. 1893. No. 20. p. 653 hat B. Fischer von einer neuen und eigentümlichen endogenen Zellbildung berichtet, welche bei verschiedenen Kahmhautpilzen stattfinden sollte. Kurze Zeit danach erschien eine ausführlichere Abhandlung (Zur Morphologie, Biologie und Systematik der Kahmpilze, der Monilia candida Hansen und des Soorerregers) von demselben Verf. in Vereinigung mit C. Brebeck; in dieser Abhandlung wird u. a. derselbe Gegenstand behandelt. Ein neues Genus, Endoblastoderma, wird aufgestellt; dasselbe umfaßt hauptsächlich diejenigen Species, welche bis jetzt unter dem systematischen Namen Mycoderma einbegriffen wurden. Alle die dazugehörigen Arten haben die neue endogene Zellbildung und eine derselben, E. pulverulentum, zeichnet sich außerdem besonders durch die Bildung endogener Sporen aus. Letztere sind hutförmig und denen bei Sacch. anomalus vollständig ähnlich. Der ganzen Beschreibung nach unterliegt es keinem Zweifel, daß Sacch. anomalus und E. pulverulentum identisch sind.

Ref. hat nun Untersuchungen mit Sacch. anomalus angestellt in betreff dieser von Fischer und Brebeck beschriebenen endogenen Zellbildung, deren Gegenwart hier um so mehr merkwürdig

sein würde, als die genannte Art in diesem Falle also zwei verschiedene, endogene Zellbildungen haben müßte, nämlich die erwähnte neue und die gewöhnliche Sporenbildung außer der vegetativen Sprossung, ein Verhalten, wozu man jedenfalls kein entsprechendes kennt.

Nach Fischer's und Brebeck's Beschreibung geht die neue endogene Zellbildung auf folgende Weise vor sich; dieselbe wird doch nur hier in aller Kürze mitgeteilt, indem Ref. übrigens auf die genannte Abhandlung hinweist. In der jungen Zelle tritt ein lichtbrechendes Körperchen auf, welches allmählich durch die Wandung der Zelle hindurchtritt und alsdann ganz ähnlich wie eine eben abgeschnürte Sprosse sich an der Mutterzelle anlegt, um dann weiter zu wachsen. Derselbe Vorgang kann sich auch an dieser neuen Zelle wiederholen. Diese ist die Beschreibung in der ersten Mitteilung Fischer's; später aber in der ausführlicheren Abhandlung wird mitgeteilt, daß die neugebildete Zelle in Verbindung mit der Mutterzelle bleibt, wie bei einer gewöhnlichen Sprossung, wenn eine Zelle gebildet wird.

Wie es sich auch verhalten möge, so gelang es indessen trotz zahlreicher Untersuchungen Ref. nicht, diese eigentümliche endogene Zellbildung zu beobachten. Ref. wurde dagegen auf einen Vorgang aufmerksam, der eine täuschende Aehnlichkeit mit dem obengenannten hat und welcher daher hier genauer erwähnt werden soll. Der Abhandlung von Fischer und Brebeck zufolge finden sich in der Haut der genannten Art zweierlei Zellen, bläulich-schimmernde und glanzlose. In ersteren soll die merkwürdige endogene Zellbildung stattfinden. Ref. fand diesen Unterschied in dem Aussehen der Zellen darin begründet, daß die bläulichen ihre Stellung in dem unmittelbar unter dem Deckglase liegenden Teile der Nährflüssigkeit haben und infolgedessen dieses Aussehen bekommen; die anderen tiefer liegenden Zellen werden dadurch anscheinend glanzloser. In der Abhandlung von Fischer und Brebeck findet sich ein nach einem Photogramm angefertigter Lichtdruck (Fig. 8, Taf. II), der laut der Verff. den genannten Vorgang wiedergiebt. Ref. bekam ganz dasselbe Bild in seinen Kulturen. Der von ihm beobachtete Vorgang war alsdann der folgende: Ein lichtbrechendes Körperchen entsteht in der Zelle, dasselbe wird größer und größer und zu derselben Zeit wird die Kontur dicker und dicker; bald danach ragt dieses neugebildete Körperchen über die Wand der Mutterzelle hinaus, indem es nämlich nichts anderes ist als eine gewöhnliche Sprossung, die in einer mehr oder wenig senkrechten Richtung auf das Deckgläschen vor sich geht. Gleichzeitig mit dem Wachstume der jungen Zelle nimmt das Gewicht derselben zu, wodurch sie und die Mutterzelle umwälzen, so daß der ganze Vorgang den Schein bekommt, als ob die junge Zelle durch die Wand der Mutterzelle hinausgegangen sei. Ref. sah dieses ganz deutlich, beobachtete aber dagegen niemals etwas, welches als der neue Fortpflanzungstypus erklärt werden konnte. Sacch. anomalus gehört deshalb nicht dem Genus Endoblastoderma an, sondern muß in

dem Genus Saccharomyces bleiben. Auch gelang es Ref. nicht, bei einer Mycodermaart, welche zu demselben Zwecke untersucht wurde, die eigentümliche endogene Zellbildung zu sehen und er schließt deshalb mit der Aeußerung, daß, falls dieselbe überhaupt vorkäme, sie eine noch weit seltenere Erscheinung sein muß, als Fischer und Brebeck anzunehmen scheinen.

Klöcker (Kopenhagen).

Will, H., Vergleichende Untersuchungen an vier untergärigen Arten von Bierhefe. [Mitteilungen d. wissenschaftl. Station f. Brauerei in München.] (Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen. XVIII. 1895. No. 1—7.)

Seit Einführung reingezüchteter Kulturhefen hat man sich in den weitesten Kreisen der Wissenschaft und Praxis daran gewöhnt, bestimmte Hefearten bezw. Heferassen zu unterscheiden, indem man hiermit auch bestimmte Vorstellungen über deren Eigenschaften, wie hoher und niedriger Vergärungsgrad u. s. w. verbindet.

Eine Unterscheidung und bestimmte Charakterisierung dieser verschiedenen Hefearten und Rassen mag allerdings in extremen Fällen nach deren chemisch-physiologischen Leistungen gelingen, sind aber nur geringe Unterschiede in den Eigenschaften vorhanden; so wird es Schwierigkeiten bereiten, festzustellen, ob verschiedene Arten vorliegen, und völlig unmöglich wird es sein, eine aus einer Hefe unbekannter Abstammung hergestellte Reinkultur zu identifizieren, auch wenn diese Hefe den gleichen Typus wie wohl bekannte Arten zeigt.

Obwohl bereits von Hansen und vom Verf. die diagnostische Bedeutung der Verhältnisse der Sporenbildung, besonders die Feststellung der Minimum- und Maximumtemperaturen zu wiederholten Malen hervorgehoben wurde, so sind bis jetzt doch nur wenige dahingehende Beobachtungen an Kulturhefen gemacht worden und auch die bei der Kahmhautbildung auftretenden Verschiedenheiten, welche zwar weniger diagnostische Merkmale bieten, als vielmehr einen tieferen Einblick in die biologischen und entwickelungsgeschichtlichen Verhältnisse der Hefe gestatten, haben nur ausnahmsweise Beachtung gefunden.

Auch das Wachstum der Hefe auf festem Nährboden während verschiedener Altersstadien bietet Merkmale zur Charakteristik der Hefen, doch sind unsere Kenntnisse über die Kulturhefe noch zu lückenhaft, um ein alle Beziehungen der Hefe umfassendes natürliches System der Hefe begründen zu können, und es wäre wünschenswert, wenn in gleicher Weise wie bei den vom Verf. gewählten vier Hefearten eine größere Anzahl von Kulturhefen in Untersuchung gezogen würde.

Die untersuchten vier Hefearten, welche aus der Sammlung von Reinkulturen der wissenschaftlichen Station für Brauerei in München stammen und vorläufig mit No. 2, 6, 7 und 93 bezeichnet sind, wurden aus dem Grunde gewählt, weil dieselben sich gegenüber der Bierwürze typisch verschieden verhalten und auch hinsichtlich der Sporen und Kahmhautbildung konstante Verschiedenheiten sich ergaben:

Stamm 93 und 2 sind im allgemeinen hoch vergärend,
„ 7 ist typisch niedrig vergärend,
„ 6 zeigt mittlere Vergärung.

Hinsichtlich der Sporenbildung entfernt sich Stamm 7 weit von den drei anderen Hefen und bezüglich der Kahmhautbildung sind unter den vier Hefearten drei Typen vertreten; Stamm 93 und 7 stellen je einen extrem verschiedenen Typus dar, während 2 und 6 eine Gruppe für sich bilden, der sich die meisten im Laboratorium des Verf.'s zur Beobachtung gelangten zahlreichen Hefearten anschließen.

In vier Abschnitten:

I. Charakteristik der Zellformen aus normalen Würzegärungen,

II. Wachstum der Hefe auf 10-proz. Würzegelatine,

III. Sporenbildung,

IV. Kahmhautbildung

beschreibt Verf. die während einer längeren Reihe von Jahren an den vier Hefearten gemachten Beobachtungen.

I. Charakteristik der Zellformen aus normalen Würzegärungen.

Zunächst ist beachtenswert, daß die für die vier Hefearten charakteristischen Zellformen erst nach einer längeren Reihe von Generationen wieder hervortreten, wenn die Kulturen, von welchen die Gärungen ihren Ausgangspunkt genommen haben, zu alt geworden sind, oder die Hefe in 10-proz. Saccharoselösung aufbewahrt worden war.

Stamm 2 bildet große rundliche bis ovale Zellen von großer Gleichmäßigkeit. Längsdurchmesser der ovalen Zellen 10—11 μ, Querdurchmesser 9—10 μ. Durchmesser der rundlichen Zellen 8—9 μ.

Stamm 6 erzeugt vorherrschend ovale Zellen von 9:8 μ Durchmesser und zeigt die Hefe große Neigung, wurstförmige Zellen bis zu 15 μ Länge bei 6—7 μ Durchmesser zu bilden.

Stamm 93 gleicht hinsichtlich der Zellform Stamm 2 und ist im allgemeinen ziemlich gleichmäßig zusammengesetzt.

Stamm 7 ist typisch oval bis kugelförmig mit Zellen, deren Durchmesser bei den kugeligen 9 μ, bei den ovalen zwischen 7 und 11 μ beträgt. Charakteristisch ist für Stamm 7 das regelmäßige Auftreten ungemein großer kugeliger Zellen, sogenannter „Riesenzellen“ von 13—15 μ Durchmesser, welche meist eine große Vakuole enthalten. Weiter erscheinen am Schlusse der Hauptgärung häufig reiche Sproßverbände kleiner ovaler Zellen, welche den echten Hautzellen gleichen (siehe Kahmhautbildung) und nicht selten denjenigen von wilder Hefe ähnlich sind.

Es lassen sich also Stamm 7 durch die Gegenwart von Riesenzellen, sowie Stamm 6 durch seine Neigung zur Bildung von wurstförmigen Zellen, wenn dieselben in Reinkultur vorliegen, unschwer mikroskopisch unterscheiden, während die Unterschiede von Stamm

93 und 2 zu gering sind, um bei einfacher mikroskopischer Prüfung erkannt zu werden.

II. Wachstum der Hefekolonieen auf 10-proz. Würzegelatine.

Das Wachstum der aus isolierten Zellen von Stamm 2, 6 und 93 hervorgegangenen Kolonieen auf 10-proz. Würzegelatine ist im allgemeinen gleichartig und zeigen die Kolonieen in dem ersten Entwickelungsstadium die typische „Maulbeerform", welche sie auch längere oder kürzere Zeit beibehalten. Die Kolonieen sind kugelbis linsenförmig und ragen ältere Kolonieen halbkugelförmig oder zapfenförmig aus der Gelatine hervor.

Bei Stamm 7 entstehen dagegen aus den isolierten Zellen weitverzweigte Sproßverbände und sind die Umrisse der Kolonieen meist sehr unregelmäßig stark eingebuchtet und gefranst, indem entweder an allen oder nur an einer Seite („platzende Bombe") Sproßverbände aus dem kompakten Kerne hervorragen. In den Kolonieen treten die Riesenzellen sehr oft auf, zuweilen bestehen einzelne der Kolonieen nur aus weitverzweigten Sproßverbänden von Riesenzellen. Uebrigens bleiben die nur aus Riesenzellen bestehenden Kolonieen klein und zeigen überhaupt kein freudiges Wachstum.

Es entstehen zwar auch bei Stamm 7 vereinzelt Kolonieen von mehr oder weniger typischer Maulbeerform, jedoch ragen in der Regel größere Sproßverbände über den Rand der Kolonie hervor. Auf 10-proz. Würzegelatine läßt sich daher Stamm 7 von den drei anderen und den meisten übrigen untergärigen Hefearten unterscheiden, doch ist es oft schwer, die Kolonieen von diesem Stamme von den aus isolierten Zellen wilder Hefe hervorgegangenen zu unterscheiden.

III. Sporenbildung.

Die Intensität der Sporenbildung ist bei den 4 untersuchten Hefearten eine verschiedene. Stamm 93 bildet sehr leicht und reichlich Sporen und ähnlich verhalten sich Stamm 2 und 6, werden aber von Stamm 93 etwas übertroffen; Stamm 7 bildet sehr schwer Sporen, welche unter den stark vakuolisierten Zellen schwierig zu erkennen sind, auch geht die Ausbildnng der Sporen von der ersten Anlage bis zur vollkommenen Reife sehr langsam vor sich. Zwischen 22—26° C ist dieselbe verhältnismäßig am reichlichsten, während bei 11—12° C auch bei einer bis zu 3 Wochen ausgedehnten Beobachtungsdauer niemals Sporenanlagen oder Sporen beobachtet wurden, bei den anderen Hefearten dagegen die Sporenbildung bei 11° C noch innerhalb $5^1/_2$ bis 11 Tagen eintrat. In den bei diesem Stamme vorkommenden Riesenzellen wurde niemals Sporenbildung beobachtet.

Die Intensität der Sporenbildung nimmt nach dem Maximum, insbesondere aber nach dem Minimum der Temperatur hin im allgemeinen ab, doch entwickelt Stamm 93 sowohl nahe dem Maximum wie dem Minimum immer noch zahlreiche Sporen. Bei Stamm 2 ist die Sporenbildung bei 28° C eine geringe und liegt das Optimum wie bei Stamm 7 bei 25—26° C, während Stamm 93 und 6 das

Optimum erst bei 28° C erreichen. Die Zeit, innerhalb welcher bei den vier Hefen die ersten Sporenanlagen entstehen, bewegt sich zwischen 31—33½ Stunden und ist das Aussehen und die Beschaffenheit der Sporen das für Kulturhefen überhaupt bekannte und charakteristische. Das Temperaturminimum liegt bei keiner der vier Hefen so tief, wie bei den meisten der bis jetzt bekannt gewordenen wilden Hefearten.

IV. Kahmhautbildung.

Die Untersuchungen über die Kahmhautbildung wurden nur an Würzekulturen angestellt. Für die Entwickelung der Haut ist außer den bekannten Faktoren auch die Art der Sterilisation, bezw. die durch letztere verursachte Veränderung der Würze von Bedeutung. Beim Sterilisieren auf dem Sandbade werden offenbar mehr Eiweißkörper, welche erst später bei der Kräusenbildung zur Abscheidung gelangen würden, abgeschieden, als beim Sterilisieren im strömenden Dampfe. Auch die Lüftung der Würze ist auf die Schnelligkeit der Hautbildung von Einfluß, da bei wiederholten Versuchen bei Würze, welche 14 Tage gestanden hatte, eine raschere Hautbildung eintrat, als bei Würze, welche nur 8 Tage gestanden hatte, so daß stets zu den Versuchen über die Hautbildung nur im strömenden Dampfe sterilisierte Würze, welche 14 Tage gestanden hatte, zur Anwendung gelangte.

Die bläschenförmigen, nach dem Zurückgehen der Kräusen an der Oberfläche der Flüssigkeit schwimmenden Ausscheidungen sind insofern für die Entwickelung der Kahmhaut von Bedeutung, als von denselben größere Mengen von Hefezellen zurückgehalten werden. Von diesen Hefezellen nehmen die im ersten Entwickelungsstadium der Kahmhaut auftretenden „Hefeinselchen" ihren Ursprung.

Die durch diese Eiweißausscheidungen am Niedersinken gehinderten Hefezellen gleichen zunächst hinsichtlich Form, Größe und sonstiger Beschaffenheit den am Boden der Kulturgefäße abgelagerten Hefezellen. Die bei der Vermehrung dieser Zellen entstehenden Tochterzellen gleichen ebenfalls anfangs den Mutterzellen noch vollständig, sehr bald erkennt man jedoch zwischen den ursprünglichen und deren Tochterzellen rundliche oder ovale Zellen, welche sich durch eine ungemein starke Membran, reichen Gehalt an Oeltröpfchen und Glykogen, sowie durch das Fehlen oder eine sehr geringe Anzahl sehr kleiner Vakuolen auszeichnen. Von den in den trocken aussehenden Hefeklümpchen enthaltenen Zellen und Tochterzellen sprossen bei der weiteren Entwickelung der Haut, je nach der Hefenart, kleine ovale, 6—7 μ große, bei einzelnen Arten auch wurstförmige Zellen von 9—11 μ Länge hervor. Diese kleinen Zellen sprossen von den in den Würzeausscheidungen zurückgehaltenen Zellen meist gleichzeitig und in großer Zahl hervor. Sie führen eine neue Generation der Hefe ein und sind dieselben die erste Generation der „echten" Hautzellen. Das Auftreten derselben bezeichnet den Beginn der Kahmhautbildung.

Das Auftreten der ersten „echten" Hautzellen, welches bei verschiedenen Hefearten bei gleicher Temperatur zu verschiedenen Zeiten

erfolgt, läßt sich nach der äußeren Beschaffenheit der auf der Flüssigkeit schwimmenden Hefeklümpchen nicht beurteilen und auch mikroskopisch läßt sich das erste Auftreten nicht mit absoluter Sicherheit feststellen, indem dieselben schon in dem einen Hefeklümpchen vorhanden sein können, in dem anderen noch nicht.

Entweder gleichzeitig mit der Ausbildung der Hefeinselchen oder nahe dem Maximum und Minimum der Hautbildung, meist früher, entsteht längs des Flüssigkeitsringes ein „Hefering", welcher aus den am Rande der Flüssigkeit zurückgehaltenen Zellen entstanden ist und in welchem bei weiterem Wachstume in die Breite und Dicke ebenfalls die echten Hautzellen erster Generation auftreten. Kahmhaut und Hefering sind daher vollständig äquivalente Gebilde.

In älteren Kulturen mit Kahmhautbildung finden sich auch, wenn alle anderen Zellformen abgestorben sind, unter den rundlichen, starkwandigen Zellen noch solche, welche den Ausgangspunkt einer neuen Vegetation bilden können und vom Verf. wegen der großen Widerstandsfähigkeit und langen Lebensdauer als „Dauerzellen" bezeichnet werden. Außer den morphologischen Veränderungen beobachtet man nicht selten, daß in den aus diesen Dauerzellen bei der Keimung hervorgegangenen Sprossen Querwandbildungen auftreten.

Nahe dem Maximum und Minimum der Temperatur tritt die Hautbildung nur mehr in Form eines Heferinges oder nur als wenig kleine Hefeflecke auf.

Bezüglich der Hautbildung sind nun unter den vier Hefearten drei Typen repräsentiert.

Die Kulturen von Stamm 7 werden am schnellsten mit einer Kahmhaut überzogen, dann folgt Stamm 6, bei Stamm 2 und 93 ist die Hautbildung eine langsame, resp. bei Stamm 93 ist die geringste Intensität vorhanden.

Nach zwei Monaten ist bei Stamm 93 die Oberfläche von einem dünnen, farblosen, trockenen Häutchen bedeckt.

Nach zwei Monaten sind bei Stamm 2 einige größere, zum Teil zu etwas ausgedehnten Hautflecken verschmolzene Hefeinselchen vorhanden; die Haut zeigt noch bedeutende Lücken, dagegen 5 mm breiter Hefering vorhanden.

Nach zwei Monaten ist bei Stamm 6 eine Haut von noch größerem Umfange vorhanden, die Oberfläche wird von einer fast kontinuierlichen Haut überzogen, während sich am Rande ein 3 bis 4 mm starker, ununterbrochener Hefering hinzieht.

Nach zwei Monaten ist bei Stamm 7 die Oberfläche von einer gelblich-weißen, schleimigen Haut von ziemlich gleichmäßiger Dicke bedeckt, indem nur wenig kleine Lücken vorhanden sind. Kontinuierlicher 2 mm dicker Hefering.

Das mikroskopische Bild der Zellen in der Haut nach zwei Monaten und in älteren Kulturen ist folgendes:

Stamm 93. Nach zwei Monaten bestehen die dünnen, trockenen Häutchen aus sehr gleichmäßigen rundlichen Zellen von 8—9 μ Durchmesser, sind stark verdickt und reich an Oeltröpfchen (Dauerzellen).

Neben diesen derbwandigen Zellen treten in größerer Menge auch die kleinen ovalen, auch wurstförmigen echten Hautzellen erster Generation auf und beherrschen beide Zellformen, wenn sie einmal aufgetreten sind, während der ersten sechs Monate das mikroskopische Bild vollständig. Die dickwandigen runden Zellen treten mehr und mehr zurück.

Außerdem findet sich aber hier bereits eine zweite Generation von Hautzellen, welche aus den dickwandigen Zellen hervorsproßt, lange wurstförmige Zellen bis zu 20 μ bildet. Gegenüber den echten Hautzellen erster Generation treten sie jedoch noch sehr zurück; je älter die Kahmhäute werden, desto mehr werden jedoch die Kahmhautzellen zweiter Generation in den Vordergrund geschoben und in alten Kulturen ($1^1/_4$ Jahr) bilden diese langgestreckten, aus den rundlichen, dickwandigen Zellen hervorgegangenen Zellen am unteren Rande des Heferinges eine zähe, schwierig in Wasser verteilbare Haut, welche aus einem mycelgleichen, dichten Flechtwerke besteht. Das Auftreten von Querwänden in diesen Zellen wurde bei Stamm 93 nur höchst selten beobachtet.

Für Stamm 93 ist daher eine langandauernde reiche Vermehrung der in den Kräusenausscheidungen an der Flüssigkeitsoberfläche festgehaltenen Zellen bei gleichbleibender Größe und starker Membranverdickung charakteristisch und geht derselbe nur langsam in die Generation der echten ersten Hautzellen über.

Stamm 7. Derselbe bildet den völligen Gegensatz zu Stamm 93. Die Vermehrung der auf der Flüssigkeitsoberfläche nach dem Zusammenfallen des Schaumes abgesetzten Hefe findet zwar auch noch statt, dieselbe ist aber eine sehr geringe. Schon nach wenigen Tagen treten die kleinen Hautzellen auf und entstehen die Hefeinselchen sehr schnell. Rundliche derbwandige Zellen scheinen überhaupt nicht gebildet zu werden oder treten erst sehr spät auf. Wegen des oben schon erwähnten baldigen Auftretens von kleineren Sproßverbänden in der Würze am Ende der Hauptgärung drängt sich die Frage auf, ob nicht schon zu dieser Zeit die Hefe in die Kahmhautbildung übergeht. Jedenfalls bildet diese Hefe sehr leicht eine Kahmhaut. Es ist anzunehmen, daß bei dieser Hefe die Alkoholgärungsform keine sehr gefestigte ist, womit möglicherweise auch der geringe Vergärungsgrad dieser Hefe in Zusammenhang steht. Dagegen scheint mehr die Schimmelpilznatur dieser Hefe ausgeprägt zu sein.

Eine zwei Monate alte Kahmhaut dieser Hefe besteht vorwiegend aus 5—7 μ großen, ovalen, echten Hautzellen, neben größeren Mengen rundlicher, 8—9 μ großer Zellen wie bei Stamm 93, jedoch zeigen diese Zellen keine stark verdickte Membran, wie die entsprechenden Zellen der drei anderen Hefearten. Zellen, welche bei fehlender Vakuole und sehr starker Membranverdickung dicht von größeren Oeltröpfchen wie die typischen Dauerzellen erfüllt sind, kommen in Würzekulturen nur sehr selten vor. Auch nach sechs Monaten setzen sich die Kahmhäute aus den aufgezählten Formelementen zusammen. Kleine ovale Zellen von 6—7 μ Durchmesser

sind vorherrschend, bei manchen Kulturen treten derbe, wurstförmige Zellen in größerer Menge auf und sind in der Kahmhaut wie im Heferinge Riesenzellen bis zu 16 μ Durchmesser nicht selten. Auch nach 1 Jahre erscheint die Haut in ihren Formelementen nicht wesentlich verändert, doch macht sie durch die spärliche Entwickelung und den zuweilen fast völligen Mangel an langgestreckten Zellen am Heferinge in älteren Kulturen ein charakteristischer Unterschied gegenüber Stamm 93, 2 und 6 geltend, da bei derartigen älteren Kulturen die zähe mycelartige Haut auf der Innenseite des Heferinges fehlt. In Vergleich zu den übrigen Hefearten ist Stamm 7 in Würzekulturen sehr wenig widerstandsfähig, indem in 3 Jahre alten Kulturen alles oder fast alles tot war, während bei den 3 anderen Hefearten in mehr als 5 Jahre alten Kulturen noch lebenskräftige Zellen vorhanden waren. Wahrscheinlich hängt diese geringere Ausdauer der Zellen mit der Seltenheit von Dauerzellen zusammen.

Stamm 2 und 6. Auch hier findet noch eine Vermehrung der in den Kräusenausscheidungen zurückgehaltenen Zellen statt und die aus diesen Zellen in reichen Sproßverbänden hervorgegangenen kleinen Hautzellen erster Generation zeigen in beiden Fällen eine Tendenz zur Streckung. In einer zwei Monate alten Kultur von Stamm 2 finden sich neben kleinen ovalen und gestreckt ovalen Zellen meist schon sehr reiche Sproßverbände von derbwandigen, wurstförmigen Zellen, während Stamm 6 zu der gleichen Zeit verhältnismäßig nur wenige wurstförmige Zellen in Sproßverbänden gebildet hat. Sehr vereinzelt enthält die Haut bei beiden Arten auch schon große, rundliche Zellen (8—9 μ) mit derber Membran und Oeltröpfchen.

Auch nach 4—5 Monaten herrscht bei Stamm 2 die erste Generation der echten Hautzellen noch vor, doch macht sich bereits ein Uebergewicht der anderen Generation, welche mit keulen- bis birnförmigen Zellen auftritt, geltend. Nach etwa 6 Monaten ist die Generation der kleinen Hautzellen fast völlig unterdrückt und sind jetzt rundliche Zellen von 8—9 μ Längsdurchmesser, welche citronenbirnförmig sich zugespitzt haben, vorhanden. Die Sproßverbände der wurstförmigen Zellen bilden oft ein dichtes Flechtwerk, in welchem eine charakteristische Art der Verzweigung der wurstförmigen Zellen auftritt. Auch nach 1 Jahre hat sich die Zusammensetzung der Haut nicht wesentlich geändert. In einer 5 Jahre alten Kultur fanden sich von der alten Kahmhaut nur wenige Reste vor; in dem noch vorhandenen Heferinge war wie bei Stamm 93 und 6 die Innenseite von dicht verflochtenen, mycelreichen Zellen gebildet, von welchen einzelne von enormer Länge, bis zu 150 μ beobachtet wurden.

Stamm 6 zeigt im allgemeinen wie Stamm 2 in der Haut dieselben Zellformen, nur ist das gegenseitige Mengenverhältnis ein verschiedenes und findet sich auch hier die eigentümliche Verzweigung der langen Zellen.

Die Ergebnisse seiner Untersuchungen stellt der Verf. in folgenden Sätzen zusammen:

1) Zwei der untersuchten untergärigen Bierhefen = Stamm 7

und 6 lassen sich in Reinkulturen nach charakteristischen Zellformen schon durch das mikroskopische Bild der Bodensatzhefe unterscheiden.

2) Ebenso geben bei Stamm 7 die Wachstumserscheinungen der Bodensatzhefe, der reinen Alkoholgärungsform auf festen Nährböden schon in den ersten Entwickelungsstadien der Kolonieen ein diagnostisches Merkmal.

3) Wie bei den übrigen Hefearten geben die drei Kardinalpunkte der Temperatur, insbesondere für das Maximum und Minimum der Sporenbildung ein sehr gutes Unterscheidungsmerkmal für die untersuchten Hefen ab.

4) Den Beginn der Kahmhautbildung bezeichnet das Auftreten kleiner ovaler Zellen von 6—7 μ Durchmesser (erste Generation der echten Hautzellen). Dieselben sprossen aus den von den Kräusenausscheidungen zurückgehaltenen oder längs des Flüssigkeitsrandes abgesetzten größeren Zellen hervor, welche noch der Bodensatzhefe gleichen. Sie entstehen gleichzeitig in größerer Zahl an den bezeichneten Zellen.

5) Die Neigung der vier Hefearten zur Kahmhautbildung ist eine verschiedene. Am geringsten ist dieselbe bei Stamm 93, Stamm 7 dagegen geht leicht und sehr rasch in die Kahmhautgeneration über. Möglicherweise besteht ein gewisser Zusammenhang zwischen dieser Eigenschaft und dem Vergärungsgrade dieser Hefen.

6) Die von den Kräusenausscheidungen zurückgehaltenen, sowie am Rande der Nährflüssigkeit abgesetzten Zellen und deren Tochtergenerationen gehen früher oder später unter starker Verdickung der Membran und Aufspeicherung von Reservestoffen in eine Dauerform über.

7) Diese Dauerform entsteht in sehr ausgedehntem Maße bei Stamm 93, in geringer Zahl bei Stamm 7.

8) Früher oder später entwickeln sich bei den untersuchten Bierhefen aus den Dauerzellen typisch gegliederte Mycelien (zweite Generation der Kahmhautzellen), wobei einzelne Zellen eine sehr starke Streckung (bis zu 150 μ) aufweisen. In den Zellen findet nicht selten die Bildung von breiten Querwänden statt.

Bei Stamm 7 ist diese zweite Generation der Kahmhautzellen im Heferinge nur in geringem Umfange entwickelt, zuweilen fehlt sie vollständig.

Es ist hierdurch ein sehr charakteristischer Unterschied gegenüber gleichalterigen und unter denselben Bedingungen gehaltenen Kulturen von Stamm 93, 2 und 6 gegeben.

9) Eine Unterscheidung der untersuchten untergärigen Hefearten nach der Form der Kahmhautzellen ist unmöglich, nachdem ähnliche Zellformen sich bei den vier Arten wiederholen und für die einzelnen Arten charakteristische Zellformen fehlen.

Stellwaag (Weihenstephan).

Frank, Das Umfallen des Roggens, eine in diesem Jahre erschienene parasitäre Krankheit. (Deutsche Landwirtschaftliche Presse. Jahrg. XXI. No. 51. p. 509.)

Frank, Die diesjährigen neuen Getreidepilze. (Ebenda. No. 67. p. 644 u. ff.)

— —, Der neue Roggenpilz. (Deutsche Landwirtschaftszeitung. 1894. No. 124. p. 740 u. ff.)

In diesen drei Aufsätzen veröffentlicht Verf. seine vorläufigen Beobachtungen, soweit dieselben für die Praxis von Interesse sind, über verschiedene Pilze, die im Jahre 1894 in Deutschland zum ersten Male im größeren Umfange auftraten.

Den Roggenfeldern wurde ganz besonders gefährlich Leptosphaeria herpotrichoides de Not.

Die auffälligste Erscheinung, die dieser Pilz hervorruft, ist die, daß die von ihm befallenen Roggenhalme dicht über der Wurzel eingeknickt werden. Ein ähnliches Einknicken des Halms wird freilich auch durch die Larven der Cecidomyia destructor, der Hessenfliege, verursacht, die zwischen Scheide und Halm herabkriechen und unten durch Zernagen den Halm zum Umfallen bringen; allein bei den hier in Frage kommenden Pflanzen handelte es sich offenbar um einen Pilz, denn sowohl Fraßstellen, wie auch die Larven und tönnchenförmigen Puppen der Hessenfliege fehlten meistens ganz und gar. Schon vor dem Einknicken machten die am meisten verpilzten Stellen sich schon äußerlich durch intensiv dunkle Flecke kenntlich, das ganze Stengelgewebe war in dieser Gegend von Pilzen durchsetzt, und nicht selten war an solchen Stellen sogar der Hohlraum des Stengels mit feinem, weißgrauem Pilzgewebe erfüllt. Der Stengel selbst war infolge der Verpilzung brüchig geworden, und schon geringe Windstöße hatten genügt, die Halme umzubrechen. Da die Infektion teils schon in die Blütezeit fiel und dann schnell stärker um sich griff, so gelangten die Körner vielfach nicht zur Ausbildung. Zuerst, und zwar beim Winterroggen schon im Frühling, fallen die Seitentriebe, erst später der Haupthalm, dem Pilze zum Opfer. Das Stroh bleibt frei von Mycel und Perithecien, und nur in denjenigen Halmstücken, die unterhalb des Sensenschnitts liegen, treibt der Pilz sein Wesen und läßt seine Perithecienfrüchte hier als kleine, dem unbewaffneten Auge kaum erkennbare Punkte erscheinen. Vor der Hand, bis man den ganzen Entwickelungsgang des Schädlings studiert hat, mag wohl ein möglichst frühzeitiges, tiefes Unterpflügen der Stoppeln, wie auch ein damit verbundener Fruchtwechsel das empfehlenswerteste Gegenmittel sein.

Die beiden anderen neuen Feinde des Landmanns, die der Verf. signalisiert, sind Weizenschädlinge. Der eine derselben, Ophiobolus herpotrichus Sacc. tritt auf und fruktifiziert in Perithecien, wie der vorgenannte Roggenschädling, ebenfalls tief unten über der Wurzel, verpilzt, schwärzt den Halm und tötet ihn oft, geht auch häufig in die Wurzel und bringt dadurch den Wirt zum Bleichen und schließlich — oft unter Schwärzung — zum Absterben. Knickung unterbleibt, weil der Weizenhalm derber ist, als der Halm des Roggens. Der Fruchtansatz in Perithecien findet im August statt, die Reife aber erst auf den Stoppeln. — Als bestes Gegenmittel empfiehlt sich, bis der Entwickelungsgang dieses Pilzes genauer erforscht ist,

auch hier frühes Unterpflügen der Stoppeln und Vermeidung einer abermaligen Weizenbestellung im folgenden Jahre auf dem verseuchten Felde.

Mit dem obengenannten im Bunde arbeitet an der Verwüstung des Weizenfeldes oft der dritte der neuen Schädlinge, Leptosphaeria tritici Pass., in dessen Gemeinschaft sich neben anderen weniger wichtigen Pilzen vielfach eine Septoriaart[1]) fand. Derselbe hat sich im verflossenen Jahre ebenfalls sehr verbreitet, indem er die Weizenblätter befiel, die sich dann schnell verfärbten. Infolge der zu frühzeitigen Verdorrung derselben verkümmern die Aehren und liefern im günstigsten Falle nur dürftige, verschrumpfte Körner. Trocknis hemmt den Reifeprozeß der Leptosphaeria-perithecien; durch Anfeuchtung wird die gehemmte Entwickelung wieder aufgenommen. Vom Winterweizen, auf dem er schon früh im Jahre in bedrohlicher Weise aufgetreten war, ist der Pilz auch auf den Sommerweizen übergegangen. Daß die Sporen mit dem Stroh in die Scheunen gefahren werden und auf diesem Wege auch in den Erdrusch und den Dung gelangen, erschwert wahrscheinlich die Unterdrückung dieses Pilzes erheblich. Vorläufig scheint eine trockene Verwendung des Strohs, z. B. zu Flechtwerk etc., sowie ein möglichst baldiges tiefes Umpflügen der Weizenstoppeln, wie auch ein Wechsel der Frucht auf dem infizierten Acker im folgenden Jahre die meiste Aussicht auf Vertilgung dieses Pilzes zu bieten.

Alle drei genannten Pilze sind als Getreideverwüster schon in den letzten Jahren in Italien aufgetreten, Leptosphaeria herpotrichus sogar schon in den achtziger Jahren. Leptosphaeria tritici ist seit einigen Jahren ganz vereinzelt in Deutschand, ferner auch in Galizien, Ophiobolus auch in Frankreich gefunden. Deutschland ist aber in großer Ausdehnung, von Holstein bis zum unteren Laufe der Donau, erst im vorigen Jahre, und zwar stellenweise recht empfindlich, von ihnen heimgesucht. Einzelne Landwirte taxierten ihren Schaden bis zu 50, ja 75 Proz. Nach des Autors Meinung sind diese Pilze bereits früher in Deutschland verbreitet gewesen, haben es aber nur bis zur Mycel- und zur Artbestimmung nicht ausreichenden Konidienbildung gebracht, wodurch ihrer starken Vermehrung Schranken gesetzt waren, so daß der angerichtete Schaden unbeachtet blieb. Durch noch unbekannte Ursachen, die bis ins Jahr 1893 zurückliegen können, ist aber eine Erstarkung derselben bis zur Perithecienentwickelung eingetreten, womit eine starke Vermehrung der Pilze und ein Uebergang von saprophytischer Lebensweise zur parasitischen Hand in Hand ging. Ob diese drei Pilze nun für die Dauer ihren gefährlichen Charakter und ihre Perithecienbildung beibehalten, oder ob Menschenhand oder Witterungsverhältnisse sie wieder in ihren alten harmloseren Zustand zurückzwingen werden, kann erst die Zukunft lehren.

Krüger (Berlin).

---

1) Referenten ist es bei Infektionsversuchen mit Sporen dieses Pilzes (Septoria graminis) gelungen, an Weizenpflanzen wiederum die charakteristische Erkrankungserscheinung hervorzurufen.

Mer, Emile, Le Chaudron du sapin. (Revue générale de botanique. Tome VI. No. 64. p. 153.)

Mit dem Namen „Chaudron du sapin" wird in Frankreich die Anschwellung bezeichnet, welche die sog. Hexenbesen tragen und bekanntlich durch das Aecidium elatinum verursacht werden. Es kommt aber auch vor, daß die Bildung der Hexenbesen auf diesen Anschwellungen unterbleibt: dies ist besonders für die „Chaudrons", welche auf dem Stamme entstehen, der Fall.

Wie entstehen diese Gebilde? De Bary vermutet, daß die Ansteckung durch eine ruhende oder axillare Knospe stattfinde. Heute wird aber allgemein angenommen, daß das Mycelium des Aecidiums sich direkt auf der jungen Rinde entwickeln und durch die Schrunden derselben in das Innere des Stammes dringen kann. Der Verf. beschäftigt sich nun mit den anatomischen Verhältnissen und der Entwickelungsgeschichte des „Chaudron". Die Wachstumsschichten sind darin gewöhnlich breiter als in den gesunden Teilen; die Umgrenzung dieser Schichten ist stets stark undulös. Die Reizwirkung des Parasiten auf das Cambium bedingt eine verschiedene Intensität der Cambiumsthätigkeit an den verschiedenen Punkten der Peripherie. Hier und da zeigen sich lineare Anhäufungen von schwärzlich-brauner Farbe, welche aus eingeschlossenen nekrosierten Rindenteilen bestehen. Weiter bemerkt man taschenförmige, mit Harz erfüllte Höhlungen.

Das Wachstum des Holzes bleibt in den infizierten Teilen zurück, dafür entwickelt sich der Liber und die Rinde stärker als in den gesunden Teilen. Da die Verbreitung des Parasiten rascher fortschreitet als das Dickenwachstum des affizierten Teiles, so nimmt der „Chaudron" nach und nach eine ringförmige Gestalt an und wächst ringsherum um den Stamm.

Die mikroskopische Struktur des „Chaudron" bietet einige konstante Eigentümlichkeiten. So ist im allgemeinen der Durchmesser der Tracheiden größer, ihr Querschnitt regelmäßig kreisförmig, ihre Umgrenzung aber weniger regelmäßig als beim gesunden Holze. Die Zellwände sind dicker, öfters mit Harz inkrustiert und das Lumen reduziert. Die Markstrahlen sind dicker, sehr amylumreich und bedeutend näher aneinander gerückt.

Die chemische Zusammensetzung und die Dichte des kranken Holzes sind von denjenigen des gesunden erheblich verschieden: So enthalten 100 Teile

des gesunden Holzes
0,0905 N, 0,0568 Gerbsäure, 0,850 Harz. Dichte 0,445,
des lebenden „bois chaudronné"
0,1355 N, 0,674 Gerbsäure, 6,300 Harz. Dichte 0,673.

Nach einiger Zeit stirbt das Cambium des infizierten Holzes ab. Die stärkeführenden Teile verlieren ihr Amylum, welches durch Anhäufungen von Harz und Gerbsäure ersetzt wird. Die abgestorbene Rinde fällt schließlich auch ab: das tote Holz, der Wirkung der Atmosphärilien preisgegeben, vertrocknet zuerst, imbibiert sich nachträglich mit Regenwasser und so entsteht das „graue Holz" (bois

gris des Verf.'s). Dieses wird infolge Auslaugens der präservierenden Gerbsäure und des Harzes schließlich durch Einwirkung von saprophytischen Pilzen weiter zerstört und nimmt eine orangegelbe Farbe an (bois orange des Verf.'s). Der Zerstörungsprozes greift übrigens oberhalb und unterhalb des Chaudron bis zu einer beträchtlichen Entfernung desselben um sich.

Der „Chaudron" ist stets für die Tanne die Ursache eines frühen Absterbens. Der Austausch der Nahrung zwischen Wurzeln und Aesten wird durch die Zerstörung einer großen Cambiumfläche oder durch Verdrehung, Verwickelung oder Verfaulen der säfteführenden Gefäße unmöglich gemacht. Die Krankheit ist übrigens sehr verbreitet. Es empfiehlt sich, jeden chaudronierten Baum sofort zu fällen. Das Beseitigen der Hexenbesen ist im Frühling oder am Anfange des Sommers, vor der Sporenaussaat des Aecidiums, vorzunehmen. Amann (Lausanne).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

DR. WILHELM WINDISCH.

Allgemeines über Bakterien und andere Mikroorganismen.

Bonhoff, Untersuchungen über Giftbildung verschiedener Vibrionen in Hühnereiern. (Arch. f. Hygiene. Bd. XXII. 1895. p. 351.)

Brabant, A., La levure de bière. (Journ. de pharmacie de Liège. 1895. No. 3.)

Capitan, Le rôle des microbes dans la société. (Soc. d'Anthropologie de Paris. Sér. IV. T. IV. 1895. p. 763.)

Klein, E., The relation of bacteria and their toxines. (Lancet. Vol. I. 1895. p. 26—27.)

— —, Contribution to the morphology of bacteria. (Quart. Journ. of Microscopical Science. 1894/95. p. 1.)

Nasmyth, T. G., Bacteriology; its application to public health. (Sanit. Journ. 1895. Jan. No. 11. p. 597—615.)

Pageot, Gaston, Une nouvelle expérience de levures sélectionnées. (Moniteur idustriel. 1895. No. 10.)

Sacharbekow, M. P., Zur Bakteriologie der Petersburger Milch. (Wratsch. Bd. XVI. 1895. p. 325.)

Systematik, Morphologie und Biologie der Bakterien und anderer Mikroorganismen.

Brieger, L., Weitere Erfahrungen über Bakteriengifte. (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XIX. 1895. Heft 1. p. 101—112.)

Allgemeine Gärungsphysiologie.

Bau, Arminius, Ueber Isomaltose. Entgegnung auf Prior's Arbeiten: „Ueber die Umstände, welche den Vergärungsgrad des Bieres bei der Haupt- und Nachgärung bedingen", „Physikalisch-chemische Erklärung der Gärungserscheinungen" und „Sind die Hefen Frohberg und Saaz der Berliner Brauerei-Versuchsstation Hefetypen im physiologischen Sinne?" (Wchschr. f. Brauerei. Jahrg. XII. 1895. No. 19. p. 431.)

Cluss, La levure pure et l'acide fluorhydrique. (Compte-rendu du Congrès international de Chimie appliquée de Bruxelles-Anvers. 1894.)

Fischer, Emil, u. Lindner, Paul, Ueber die Enzyme von Schizo-Saccharomyces octosporus und Saccharomyces Marxianus. (Berichte der deutschen chem. Gesellsch. Jahrg. XXVIII. 1895. No. 8. p. 984.)

Lintner, C. J. u. Kröber, E., Zur Kenntnis der Hefeglykase. (Berichte der deutschen chem. Gesellsch. Jahrg. XXVIII. 1895. No. 8. p. 1050.)

Munsche, A., Bemerkungen zu Prior's Mitteilung „Sind die Hefen Frohberg und Saaz der Berliner Brauerei-Versuchsstation Hefetypen im physiologischen Sinne?" (Wochenschr. f. Brauerei. Jahrg. XII. 1895. No. 19. p. 436.)

Prior, E., Sind die Hefen Frohberg und Saaz der Berliner Brauerei-Versuchsstation Hefetypen im physiologischen Sinne? (Bayer. Brauerjournal. 1895. p. 193.)

Molkerei.

Kabhrel, Gustav, Zur Frage der Stellung des Kaseïns bei der Milchsäuregärung. (Arch. f. Hygiene. Bd. XXII. 1895. p. 392.)

Larbalétrier, A., Les vaches lactières (choix, races, entretien, habitations, alimentation, reproduction, élevage). Le Lait et ses produits. In-18 jésus. VII, 177 p. avec 37 fig. Paris (Garnier frères) 1895.

Sartori, Guis., Chimica e tecnologia del caseificio II (Tecnologia). 8⁰. 192 p. con fig. Torino 1895. 3 L.

Brauerei.

Denamur, V., Appareil de fermentation aseptique. (Compte-rendu du Congrès international de Chimie appliquée de Bruxelles-Anvers. 1894.)

Wetzel, G. F., Ueber Versuche mit Reinzuchthefe und einige abnorme Gärungserscheinungen. (Oesterr. Brauer- und Hopfenztg. Jahrg. VIII. 1895. No. 7. p. 93.)

Brennerei.

Stenglein, M., Maischverfahren zur Herstellung der Hefe K. (Alkohol. Jahrg. I. 1895. No. 19. p. 292.)

Preßhefefabrikation.

Zur Geschichte der Preßhefen-Industrie in Deutschland und Oesterreich. (Brennerei-Zeitung. Jahrg. XII. 1895. No. 260. p. 1524.)

Weinbereitung.

Martinand, Emploi de la levure pure dans la vinification. (Compte-rendu du Congrès international de Chimie appliquée de Bruxelles-Anvers. 1894.)

Zuckerfabrikation.

Mangin, Sur un bacille isolé de la betterave. (Comptes rendus hebdomadaires de la Société de biologie à Paris. 1895. Séance du 16 mars.)

Nahrungs- und Genußmittel, Konserven etc.

Großbritannien und Irland. Verordnung betr. Einsetzung einer Kommission zur Untersuchung der Gesundheitsschädlichkeit des Fleisches tuberkulöser Tiere. Vom 15. November 1894. (Veröffentl. d. kaiserl. Gesundheits-A. 1895. No. 3. p. 42—43.)

de Michele, P., Ricerche sperimentali sul potere tossico del latte di animali tubercolotici. (Pediatria. Vol. II. 1894. p. 228—236.)

Schoffer, Zur Kenntnis der Milchgerinnung durch Cholerabakterien. (Arb. a. d. kaiserl. Gesundheits-A. Bd. IX. 1895. Heft 2. p. 262—274.)

Scurfield, H., Measures for the prevention of tuberculous infection by milk and meat. (Public health. 1894/95. p. 105—108.)

Wacker, Ueber Fleischkonservierung. (Chemiker-Zeitung. Jahrg. XIX. 1895. No. 39. p. 903.)

Zörkendörfer, C., Ueber die Aetiologie einer Massenerkrankung in Teplitz-Schönau nach dem Genusse von Fleisch- und Wurstwaren (Trichinose und Milzbrand). (Zeitschr. f. Heilkunde. Bd. XV. 1894. Heft 6. p. 435—461.)

Wasser.

Chlopin, G., Ueber die Beziehungen der Wasserbakterien zu im Wasser gelöstem Sauerstoff. (Wratsch. Bd. XVI. 1895. p. 300.)

Dupré, A., The chemical and bacteriological examination of water. (The Analyst. Bd. XX. 1895. p. 73.)

Istvanffi, Gy. van, Die Vegetation der Budapester Wasserleitung. (Botan. Centralbl. Bd. LXI. 1895. p. 7.)

Kabhrel, Gustav, Experimentelle Studien über die Sandfiltration. (Arch. f. Hygiene. Bd. XXII. 1895. p. 323.)

Kurth, H., Ueber die gesundheitliche Beurteilung der Brunnenwässer im bremischen Staatsgebiete mit besonderer Berücksichtigung von Ammoniumverbindungen und deren Umwandlungen. (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XIX. 1895. Heft 1. p. 1—60.)

Malvoz, E., Résumé des communications sur l'essai bactériologique des eaux de boisson. (Compte-rendu du Congrès international de Chimie appliquée de Bruxelles-Anvers. 1894.)

Sclavo, A., Relazione sull' esame dell' acqua potabile di Cagliari. (Riv. d'igiene e san. pubbl. 1895. No. 1. p. 5—23.)

Durch Parasiten verursachte Krankheiten der Pflanzen.

Aderhold, R., Litterarische Berichtigung zu dem Aufsatze über die Perithecienform von Fusicladium dendriticum Wall. (Ber. d. deutsch. bot. Gesellsch. Bd. XIII. 1895. p. 54—55.)

— —, Notizen über einige im vorigen Sommer beobachtete Pflanzenkrankheiten. (Schluß.) (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. V. 1895. Heft 2. p. 86.)

Aloi, A., Nozioni elementari teorico-pratiche sulla coltivazione e sulle malattie delle viti. 3. ed. 8⁰. 86 p. con fig. Torino (G. B. Paravia e C. edit.) 1895.

Andreae, E., Ueber abnorme Wurzelanschwellungen bei Ailanthus glandulosa. [Inaug.-Diss.] 8⁰. 32 p. mit 3 Taf. Erlangen 1894.

Bailey, L. H., Peach Yellows. (Cornell University Agricultural Experiment Station. Bullet. 75. 1894. Oct. p. 393.)

— —, Varieties and leaf-blight of the Strawberry. (Loc. cit. 1894. Dec. p. 383.)

Barber, C. A., Experimental cultivation in St. Kitts, with special reference to cane-diseases in the island. (Supplement to the Leward Islands Gaz. 1894. Mai.)

Barth, Einige neue Beobachtungen über die Blattfallkrankheit der Reben. (Landwirtsch. Zeitschr. f. Elsaß-Lothringen. 1894. No. 34. p. 265.)

Cavara, F., Ueber die von Heterodera radicicola (Greef) Müll. verursachten Wurzelknollen an Tomaten. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. V. 1895. p. 66. Mit Tafel.)

Dufour, J., Die 1894 in Portugal beobachteten Weinkrankheiten. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. V. 1895. Heft 2. p. 27.)

Eriksson, J., Ueber die verschiedene Rostempfänglichkeit verschiedener Getreidesorten. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. V. 1895. Heft 2. p. 80.)

Frank, C., Die neuen deutschen Getreidepilze. (Berichte d. deutsch. botan. Gesellsch. Bd. XIII. 1895. p. 61.)

Géneau de Lamarlière, Aureobasidium vitis Viala et Boger. (Revue mycologique. Année XVII. 1895. p. 54—56. Avec 2 fig.)

Hartwich, C., Ueber das Mutterkorn von Monilia coerulea Mönch. (Sep.-Abdruck aus Schweiz. Wchschr. f. Chemie und Pharmazie. 1895. No. 2.) 8⁰. 3 p.

Heaton, S., Turnip gall-weevil. (The Gardeners Chronicle. Ser. III. Vol. XVII. 1895. p. 358.)

Hollrung, M., Die Bekämpfung der Rübenfeinde. (6. Bericht über die Thätigkeit der Versuchsstation für Nematodenvertilgung und Pflanzenschutz zu Halle.)

Klebahn, H., Kulturversuche mit heteröcischen Rostpilzen. III. Bericht (1894). Fortsetzung. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. V. 1895. Heft 2. p. 69.)

Kobus, J. D., Bijdragen tot de kennis der vietvijanden. Parasieten van insekten, die het niet beschadigen. (Archiev voor de Java-Suikerindustrie. Jaargang 1894. afl. 7. p. 9. Soerabaia 1894.)

Krull, R., Ueber Infektionsversuche und durch Kultur erzielte Fruchtkörper des Zunderschwammes, Ochroporus fomentarius Schroet. (71. Jahresber. d. Schles. Gesellsch. f. vaterländ. Kultur. Abt. II. 6. Bot. Sekt. p. 14.)

Leclerc du Sablon, Sur une maladie du Platane. (Revue mycologique. Année XVII. 1895. p. 57—59. Avec 5 fig.)

Lodeman, E. G., Some grape troubles of Western New York. (Cornell University Agricultural Experiment Station. Bullet. 76. 1894. Nov. p. 413.)

— —, Black-knot of Plums and Cherries, and Methods of treatment. (Loc. cit. 1894. Dec. p. 637.)

Pammel, L. H., Bacteriosis of Rutabaga, Bacillus campestris n. sp. (Jowa Agricultural College Experiment Station. Bullet. 27. 1894. p. 135—149.)

— —, Recent contributions to mycology. (Extr. from the Agricultural Science. 1894. p. 183—191.)

— —, The influence of fungicides upon the germination of seeds. (Loc. cit. Vol. VIII. p. 215—231.)

Potato Scab and its prevention. (Jowa Agricultural College Experiment Station. Bull. 26. p. 120—129.)

Sajo, K., Valgus hemipterus L. im lebenden Akazienbaum. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. V. 1895. Heft 2. p. 90.)

— —, Phytopathologisches aus Ungarn. (Loc. cit. p. 92.)

Savageau, C. et Perraud, J., La maladie pectique de la vigne. (Revue de viticulture. 1894. Juillet 7. p. 9—14.)

Schroeter, J., Zur Entwickelungsgeschichte der Uredineen. (71. Jahresber. d. Schles. Gesellsch. f. vaterländ. Kultur. Abt. II. 6. Bot. Sekt. p. 31.)

Second report on rusts of grain. (Experiment station of the Kansas state agricultural college, Manhattan. Bull. No. 46.)

Sipière, Louis, Du mildew. Le traitement par un procédé nouveau: le lysolage. (Comptes rendus des séances de l'Académie des Sciences de Paris. T. CXX. 1895. No. 4.)

Slingerland, M. V., The Cabbage Root Maggot with notes on the onion Maggot and allied Insects. (Cornell University Agricultural Experiment Station. Bullet. 78. 1894. p. 481.)

— —, A Plum scale in Western New York. (Loc. cit. 1894. Dec. p. 681.)

Smith, Erwin F., Peach Yellows and Peach Rosette. (U. S. Department of agriculture. Farmers Bullet. 1894. No. 17.) 8°. 20 p. With 7 fig. Washington (Government Printing Office) 1894.

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Amann, J., Das Birefraktometer. (Zeitschr. f. wissensch. Mikroskopie. Jahrg. XI. 1895. p. 440.)

Banti, G., Eine einfache Methode, die Bakterien auf dem Agar und dem Blutserum zu isolieren. (Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. I. Abt. Bd. XVII. 1895. No. 16. p. 556.)

Behrens, W., C. Reichert's Demonstrationslampe. (Zeitschr. f. wissensch. Mikroskopie. Bd. XI. 1895. p. 458.)

Borrmann, R., Ein neuer Apparat zur bequemen, schnellen und gleichmäßigen Färbung und Weiterbehandlung von Serienschnitten. (Zeitschr. f. wissensch. Mikroskopie. Bd. XI. 1895. p. 459.)

Ebernod, A., Universalmesser für Mikroskopiker. (Zeitschr. f. wissensch. Mikroskopie. Bd. XI. 1895. p. 465.)

Haegler, Carl S., Zur Agarbereitung. (Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. I. Abt. Bd. XVII. 1895. No. 16. p. 558.)

Lighton, W., Ein Convex-Illuminator. (American. microscop. Journ. Bd. XVI. 1895. p. 89.)

Mercier, A., Die Zenker'sche Flüssigkeit, eine neue Fixierungsmethode. (Zeitschr. f. wissensch. Mikroskopie. Bd. XI. 1895. p. 471.)

Monticelli, S., Ein neuer Compressions-Apparat. (Zeitschr. f. wissensch. Mikroskopie. Bd. XI. 1895. p. 454.)

Samter, M., Eine einfache Methode zur Markierung sehr kleiner, farbloser, schwer färbbarer Objekte bei der Paraffineinbettung. (Zeitschr. f. wissensch. Mikroskopie. Bd. XI. 1895. p. 469.)

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien.

Cambier, R. et **Brochet, A.**, Sur la désinfection des locaux par l'aldehyde formique gazeuse. (Annales de micrographie. 1895. No. 3. p. 89—102.)

Inhalt.

Originalmitteilungen.

Original-Referate aus bakteriologischen Instituten etc.

Referate.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

1895. **Centralblatt** Bd. I. No. 12.
für Bakteriologie und Parasitenkunde.
II. Abteilung.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Centralblatt
für
Bakteriologie und Parasitenkunde.

Zweite Abteilung:
Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie und Pflanzenpathologie.

In Verbindung mit
Prof. Dr. **Adametz** in Krakau, Dr. W. M. **Beyerinck** in Delft, Prof. Dr. **A. B. Frank** in Berlin, Dr. **v. Freudenreich** in Bern, Prof. Dr. **Emil Chr. Hansen** in Kopenhagen, Dr. **Lindner** in Berlin, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Dr. **Erwin F. Smith** in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. **Stutzer** in Bonn, Privatdocent Dr. **Wehmer** in Hannover, Dr. **Weigmann** in Kiel, Dr. **Wilfarth** in Bernburg und Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg.
herausgegeben von
Dr. O. Uhlworm in Cassel.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

I. Band. **Jena**, den 10. Juli 1895. **No. 13/14.**

Preis für den Band (26 Nummern) 16 Mark.

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde" richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige ***Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.***

Original-Mittheilungen.

Ueber Micrococcus Sornthalii.

Von
Dr. L. Adametz,
o. ö. Professor an der k. k. Universität in Krakau.

Mit 1 Tafel.

Unter diesem Namen that ich verschiedenen Ortes [1]) flüchtig eines Spaltpilzes Erwähnung, der in Anbetracht seines, wie es scheint,

1) Besonders in: Ueber die Ursachen und Erreger der abnormalen Reifungsvorgänge beim Käse. p. 37. Bremen (M. Heinsius) 1893.

häufigen Vorkommens in der Milch (denn er wurde von mir in Sornthal (St. Gallen) innerhalb weniger Wochen in drei verschiedenen Milchen und später einmal in einem total vergorenen Käse konstatiert) und seiner Fähigkeit wegen, Blähung zu verursachen, hinreichend Interesse für eine eingehendere und zusammenhängende Schilderung seiner wesentlichen Eigenschaften bietet. An der Hand der von der Verlagsbuchhandlung freundlichst gewährten und von der bekannten Firma Obernetter-München in meisterhafter Weise hergestellten photolithographischen Reproduktionen unserer Mikrophotogramme kann dies um so eher und besser geschehen; auch erscheinen hiermit denjenigen, welche sich mit dem Studium der Bakterienflora der Milch beschäftigen, hinlänglich sichere Anhaltspunkte zum Wiedererkennen und zur Bestimmung dieser interessanten Species geboten.

I. Fundort.

Micrococcus Sornthalii wurde wie erwähnt, innerhalb kurzer Zeit in drei verschiedenen, mittels der Schaffer'schen Milchgärprobe untersuchten Milchen, welche hierbei lebhafte Gärungserscheinungen zeigten, gefunden. Etwa ein Jahr später fand ich ihn in einem ebenfalls aus Sornthal stammenden, mir vom Herrn Direktor E. Wyßmann freundlichst zur Untersuchung eingesandten, geradezu schwammartig vergorenen frischen Hartkäse. Die hieraus erhaltene Varietät nannte ich Microc. Sornthalii Var. II, weil sie sich durch das Verhalten in sterilisierter Milch von der gewöhnlichen etwas unterschied.

Daten über die Herkunft und Zusammensetzung liegen mir nur bezüglich einer der Milchen vor. Danach rührte dieselbe von einem hygienisch recht schlecht beschaffenen Stalle her und stellte eine Sammelmilch von 5 Kühen vor, von denen eine an einer Euterentzündung litt, die jedoch nicht die gelbe Galt war. Das spezifische Gewicht dieser Milch betrug 1,030; der Fettgehalt 4,2 Proz. und der Trockensubstanzgehalt 12,8 Proz.

Die mikroskopische Prüfung ergab als charakteristischen Befund bei allen drei Milchproben das häufige Vorkommen von zu kurzen Ketten (4—8 Glieder) vereinigten Kokken. — Die Anwesenheit von Bacillus pyocyaneus G. in zwei der Milchen muß speziell hervorgehoben werden.

Bei der Gärprobe wurden die sich ausscheidenden Kaseïnflocken durch die gebildeten Gase an die Oberfläche gerissen und bildeten mit dem daselbst abgeschiedenen Rahm eine ziemlich gleichmäßige Masse, welche sich stark kontrahierte und infolge der vielen gaserfüllten Hohlräume auf dem ausgepreßten Serum schwamm.

II. Mikroskopisches Verhalten.

Micrococcus Sornthalii stellt kugelige bis eirunde Kokken vor von 0,0007 mm mittlerem Durchmesser. Eigenbewegung ist nicht vorhanden. In Präparaten von frischen Kulturen findet man isolierte Kokken, Diplokokken (bei welchen das Endstadium des Teilungsprozesses festgehalten worden zu sein scheint), zu Häufchen aneinander gelagerte Kokken, seltener Tetraden und endlich auch kurze Ketten (meist 6—8 Glieder), durch rosenkranzartig aneinandergelagerte

Kokken gebildet. Die Tendenz zur Bildung der letzteren zeigt M. S. besonders bei Kultur in Milch. Daß übrigens feste Substrate diese charakteristische Kettenbildung nicht ganz ausschließen, beweist Fig. 2, welches Präparat von einer älteren Strichkultur auf Milchzuckernährgelatine herrührt.

Durch sorgfältige Färbung läßt sich nachweisen, daß hierbei eine die Anilinfarbstoffe nur sehr schwach aufnehmende Zwischensubstanz die Verbindung der einzelnen Glieder der Kette bedingt. Dieselbe scheint sich übrigens nur an den Berührungspunkten der Kokken zu befinden, keineswegs aber die ganze Zelle hüllenartig zu überziehen.

Durch keine der üblichen Färbungsmethoden war eine solche nachzuweisen. — In älteren, von festen Substraten herrührenden Kulturen waren charakteristische, an Hefe erinnernde Involutionsformen nicht selten. Die Zellen erschienen hierbei um das 2—3 fache des normalen Durchmessers vergrößert, färbten sich intensiver als die gewöhnlichen Kokken und zeigten wie diese, je nach Umständen, reinkugelige oder eiförmige Gestalt (siehe Fig. 2).

Ausdrücklich muß hierbei darauf hingewiesen werden, daß sich M. S. Var. I und Var. II in mikroskopischer Beziehung ganz gleich verhalten, und daß ferner auch die aus M. S. Var. I im Verlaufe längerer Kultur herangebildeten Kulturformen a und b diesbezüglich absolut keine Unterschiede erkennen ließen.

Irgend welche Dauerformen wurden nicht gebildet.

III. Platten- und Stichkulturen auf milchzuckerhaltiger Nährgelatine.

Die nur mäßig rasch sich entwickelnden Kolonieen von M. S. erschienen bei gewöhnlicher Zimmertemperatur Ende des dritten Tages als kleine weiße Pünktchen. Die tiefer in der Gelatine eingebetteten Kolonieen bilden kleine, mehr weniger kugelige Häufchen, welche bei schwacher Vergrößerung fein gekörnt und gelblichbraun gefärbt erscheinen. Ihr Wachstum hört bald auf. An der Oberfläche befindliche Kolonieen gleichen anfangs weißen, mit einem Stiche ins Gelbliche versehenen Schleimtröpfchen. Dieselben zeigen scharfe, kreisrunde Konturen bei schwacher Vergrößerung, und sind, solange klein, ebenfalls gleichmäßig durchscheinend. Später nehmen diese rasch an Ausdehnung zu, verlieren ihre scharfe Kontur und erreichen nach 8—10 Tagen einen Durchmesser von 4—5 mm. Bei schwacher Vergrößerung zeigen diese nun schmutzig- bis gelblichweißen, flachen, schleimigen Auflagerungen eine deutliche konzentrische Anordnung. Im Centrum, wo die Auflagerung am stärksten ist, erscheinen die Kolonieen (mikroskopisch beobachtet) bräunlich, fast undurchsichtig; die nächsten konzentrischen Ringe sind bräunlichgelblich gefärbt und dabei von äußerst feinkörniger Struktur. Die dünne, mit einem unregelmäßig gezackten Rande versehene äußerste Zone der Kolonieen endlich ist meist vollkommen durchsichtig. Verflüssigung der Gelatine tritt niemals auf. Daß an dieser verhältnismäßig großen, wohlausgebildeten Kolonie die gesamte Oberfläche von warzig-unebener Beschaffenheit ist, lehrt (Fig. 1) das bei schräger Beleuchtung aufgenommene Photogramm.

Aehnlich wie auf Milchzuckergelatine verhalten sich auch die Kolonieen auf gewöhnlicher Fleischwasserpepton-Gelatine und auf Glycerinnährgelatine. Nur gedeiht derselbe auf ersterer sichtlich kümmerlicher, auf letzterer eher freudiger als auf Milchzuckergelatine.

Auf Nähragar sind die Kolonieen recht uncharakteristische, weißlich gefärbte, schleimige Auflagerungen mit schwach gebuchteten Rändern.

Stich- und Strichkulturen des M. S. in und auf Milchzuckergelatine: Beide sind wenig charakteristisch. Erstere zeigen schmutzig- bis gelblichweiße schleimige Auflagerung an der Oberfläche und ein mit der zunehmenden Tiefe des Stichkanales in demselben an Intensität abnehmendes Wachstum. Der obere Teil des Stichkanales ist mit der Pilzmasse gleichmäßig ausgefüllt, während den unteren vereinzelt kleine weiße Pünktchen bedecken — ein Beweis, daß Luftzutritt, wenigstens in festen Substraten, die Entwickelung des M. S. wesentlich fördert. Die Strichkulturen bilden 3—4 mm breite, glattkonturierte Schleimstreifen.

Bemerkenswert ist, daß sich bei lange fortgesetzter Züchtung dieses M. S. auf Milchzuckernährgelatine eine Umwandlung in der Richtung allmählich vollzog, daß er rascher und üppiger wuchs und daß infolge dieser Anpassung an das neue Substrat die Schleimmasse des Pilzes ihr Aussehen etwas veränderte. Sie wurde durchscheinender und verlor die ursprünglich milchigtrübe Beschaffenheit (Wuchsform b). Mikroskopisch war jedoch weder eine Form- noch Größenveränderung zu konstatieren. Dagegen war an dieser Wuchsform b des M. S. eine wesentliche Verminderung der Gärfähigkeit zu bemerken, ja es wurde schließlich direkt eine Varietät erhalten, welche keine Gärung mehr in der Milch auszulösen vermochte. Selbst die Fähigkeit der Säureproduktion hatte bei Var. b stark gelitten, wenn schon sie nicht ganz erloschen war. Immerhin muß hervorgehoben werden, daß diese physiologischen Veränderungen erst sehr allmählich, nach Ablauf von fast $2\,^1/_2$ Jahren, und unter Umständen auftraten, welche die Lebensfähigkeit des M. S. ungünstig beeinflussen mußten (z. B. öfter erfolgtes, relativ spätes Ueberimpfen).

IV. Verhalten des Micr. Sornth. in sterilisierter Milch und die daselbst bedingten Umsetzungen.

Das Verhalten der gleich anfangs aus den ursprünglich untersuchten gärenden Milchen erhaltenen Kulturen von M. S. Var. I in sterilisierter Milch war insofern ein verschiedenes, als selbst die aus einer und derselben Milch herrührenden verschiedenen Kolonieen bei ihrer Ueberimpfung in sterilisierter Milch einen sehr verschieden hohen Grad von Gärungserscheinungen bedingten. Es fanden sich selbst Kolonieen, welche weder auf der Platte, noch mikroskopisch etc. von den gärungserregenden zu unterscheiden waren, die aber doch nur Gerinnung der Milch ohne jegliche Gärung hervorriefen.

Diese physiologischen Varietäten, welche sich eigentlich ähnlich wie die Milchsäurebakterien verhielten, wurden von mir nicht weiter berücksichtigt. Im Folgenden ist das Verhalten einer allein weiter gezüchteten, am stärksten gärenden Varietät geschildert.

Bei 28—30° C beginnt in der Mehrzahl der Fälle zwischen 30 und 36 Stunden die Gärung und bald darauf die Ausscheidung des Kaseïns einzusetzen. Letztere erfolgt entweder in großen, schleimigen Flocken, die später erst zu einer gleichartigen Masse sich vereinen, oder gleich homogen. Im letzteren Falle ist das Koagulum von zahlreichen, verschieden großen, kugeligen bis linsenförmigen Hohlräumen und breiten Rissen durchsetzt, in denen sich teils Gase, teils klares Serum befinden. Eine irgendwie stärkere Kontraktion des Kaseïns und hierdurch bedingtes Austreten von Serum an der Oberfläche etwa, oder am Boden, trat auch später nicht ein, höchstens, daß sich manchmal erstere mit einer wenige mm hohen Schicht klaren Serums bedeckte, und zwar dann, wenn flockige Ausscheidung des Kaseïns beobachtet worden war; ebensowenig erfolgt Auflösung des Koagulums. Der Geschmack dieser stark sauer reagierenden Milchkultur war rein sauer, ohne jeden Nebenggeschmack oder -geruch. Bei Verwendung kleinerer Mengen Milchkultur blieb die Gärung nicht viel länger als 24 Stunden entsprechend lebhaft, um dann noch weitere paar Tage auf einem Minimum zu verbleiben und endlich ganz aufzuhören. Durch Zugabe von sterilisierten Marmorstückchen konnte sie etwas verlängert werden, offenbar durch Bindung der gebildeten Säuren von Seite des $CaCO_3$.

Es ist selbstverständlich, daß sich bei diesen Versuchen vor allem die Frage aufdrängte, welche Bestandteile der Milch das Materiale für die Gärung vorstellen, und welcher Natur besonders die gebildeten Gase waren?

Anfangs war ich auf Grund der Thatsache, daß sich in der vergorenen Milch nur eine mäßige Abnahme des Milchzuckers im Vergleiche zur ursprünglich vorhanden gewesenen Menge konstatieren ließ, der Ansicht, daß die Gasbildung auch auf Kosten der Eiweißkörper der Milch erfolge. Diese Ansicht erwies sich jedoch als unrichtig, denn steril. neutralisierte Lösungen von 1 Proz. Pepton in Bouillon zeigten nach Impfung mit M. S. unter keinen Umständen Gasentwickelung, obschon M. S. daselbst sehr gut gedieh, wie die rasch eintretende Trübung und der flockige Bodensatz bezeugten.

Dieselbe Nährflüssigkeit, mit ca. 3 Proz. Milchzucker versetzt, als Kulturflüssigkeit für M. S. benutzt, wurde bei Brüttemperatur sowohl bei ungehindertem als bei beschränktem Luftzutritte (wenn mit einer 2—3 cm hohen Schicht sterilisierten Oeles bedeckt) in lebhafte Gärung versetzt. Diese Versuche lieferten mir, wenn auch auf indirektem Wege, den sicheren Beweis, daß die Gärung in der Milch allein auf Kosten des Milchzuckers zustande kam. Ich wählte u. a. diesen Weg deshalb, weil mir hierdurch die umständlichen und zeitraubenden quantitativen Bestimmungen der Eiweißstoffe in der Milch vor und nach der Gärung erspart wurden.

Hinsichtlich des produzierten Gases mußte ich mich seiner Zeit in Ermangelung entsprechender Vorrichtungen mit einem an 36 ccm des während der lebhaftesten Milchgärung (ca. 480 ccm Flüssigkeit) gesammelten Gases veranstalteten Orientierungsversuches begnügen. Es zeigte sich, daß etwas mehr als $^3/_4$ Volumteile derselben aus CO_2 bestanden. Fast $^1/_4$ dürfte dann aus H bestanden haben, weil

dieses Gas neben CO_2 in fast allen bisher näher untersuchten, bei Spaltpilzgärungen auftretenden Gasgemengen in größerer oder geringerer Menge sich zu entwickeln pflegt.

Eine Prüfung auf Alkohol fiel negativ aus; wenigstens konnte derselbe im Destillate von ca. 300 ccm vergorener Milch (Jodoformreaktion) nicht nachgewiesen werden.

Die scharf saure Reaktion der vergorenen Milch war durch gebildete Milchsäure verursacht, welche qualitativ nach der von Marpmann[1]) angegebenen Vorschrift nachgewiesen werden konnte. Flüchtige Fettsäuren waren keine nachzuweisen.

Daß das infolge der entstehenden Milchsäure ausfallende Kaseïn auch später keine weitere Zersetzung erfuhr, lehrte nicht nur der Augenschein, sondern es stellte sich dies auch bei der Prüfung einer zwei Wochen alten Milchreinkultur auf etwa gebildetes Pepton heraus, dessen Anwesenheit nur in Spuren nachgewiesen werden konnte, wie solche in jeder Marktmilch an und für sich schon vorhanden zu sein pflegen.

Es ergiebt sich somit hieraus, daß M. S. in Milchkulturen eigentlich nur den Milchzucker in stärkerem Maße angreift, und daß hierbei gasförmige Produkte, in denen CO_2 bei weitem vorherrscht, und Milchsäure gebildet werden.

Aber selbst von Milchzucker wird nur ein Bruchteil durch den Lebensprozeß von M. S. aufgebraucht und zersetzt. Weil stets, auch bei sehr alten Kulturen, immer noch unzersetzter Milchzucker vorhanden war, so führte ich eine quantitative Bestimmung durch, welche in einer drei Wochen alten Milchkultur, in welcher die Gärung längst beendet war, einen Verlust von nur 1,71 Proz. des Milchzuckers ergab. (4,38 Proz. Milchzucker in der ursprünglichen Milch gegen 2,67 Proz. der vergorenen.)

Alle diese Angaben beziehen sich auf das Verhalten von M. S. Var. I in Milch bei den angegebenen höheren Temperaturen. Bei gewöhnlicher Zimmertemperatur tritt Gärung und flockige Kaseïnfällung viel später ein und sind die sichtbaren Gärungserscheinungen von weit geringerer Intensität. Wichtig schien es mir, jene Temperaturgrenze kennen zu lernen, bei welcher letztere verschwinden. Gestützt auf das Ergebnis einiger Versuche glaube ich zur Annahme berechtigt zu sein, daß diese schon bei ca. 14° C gelegen ist. In einem Lokale, dessen Temperatur während der Versuchsdauer (10 Tage) zwischen 9 und 14° C schwankte, traten keine sichtbaren Gärungserscheinungen mehr auf.

Was endlich die oben erwähnte, aus schwammartig geblähtem Käse erhaltene Var. II des M. S. anbetrifft, so verhält sich diese etwas anders in sterilisierter Milch. Die hier ausschließlich feinflockige Fällung des Kaseïns trat verhältnismäßig spät, lange nach dem Einsetzen der Gärung ein.

Die infizierte Milch erschien längere Zeit vorher dickflüssig, zeigte noch lebhaftere Gärungserscheinungen als bei Impfung mit Var. I, und erst dann, wenn diese den Kulminationspunkt überschritten hatten

1) Die Milchsäuregärung. (Arch. f. Phar. 1886. p. 243—256.)

(am vierten Tage bei kleinen Mengen von Kulturflüssigkeit), begann die flockige Fällung des Kaseïns.

V. Verhalten des Micr. Sornth. in der Käsemasse.

Während zweier Jahre führte ich zu verschiedenen Zeiten, besonders mit Var. I des M. S., Versuche über das Verhalten im Käse aus. Die zu diesem Zwecke hergestellten Versuchskäschen wurden aus 2—3 Liter frischgemolkener Milch unter Beigabe von sehr verschiedenen Mengen (0,5—10 ccm) einer frischen Milchreinkultur von M. S. hergestellt. Die gemachten Beobachtungen lassen sich wie folgt kurz zusammenfassen:

A) Versuchskäse mit dem Charakter von Weichkäsen.

Gerinnungsdauer der verwendeten Milch meist 2—3 Stunden. G.-Temperatur um 25° C gelegen. Die Masse wurde unzerkleinert in die Formen geschöpft und kam kein Druck auf die Käschen in Verwendung.

Bei allen in dieser Weise bereiteten Käschen waren bald stärkere, bald schwächere, immer aber deutliche Gärungserscheinungen wahrzunehmen, vorausgesetzt, daß die Temperatur der Umgebung keine zu niedrige war. Sobald gewöhnliche Zimmertemperatur (17—20° C) benutzt wurde, trat im Gegensatze zu den Kontrollkäschen bei den mit M. S. geimpften stets Blähung, und zwar gewöhnlich im Verlaufe des dritten Tages auf.

Dies war nicht mehr der Fall, wenn niedrigere Temperaturen angewendet wurden. Wiederholt z. B. hielt ich solche Käschen in einem Raume, dessen Temperatur während längerer Zeit im Maximum zwischen 8 und 14° C schwankte, ohne auch nur einmal deutliche Blähung beobachten zu können.

Wie überhaupt ganz allgemein bei Weichkäsen eine anfangs eintretende Blähung keine bleibenden Folgen nach sich zieht, so war es auch bei diesen, bei gewöhnlicher Zimmertemperatur aufbewahrten geimpften Käschen der Fall. Die anfangs aufgetriebenen Käschen sanken später in sich zusammen, die in den oberen, durch die Reife weich gewordenen Schichten befindlichen Hohlräume verschwanden und nur die im Innern befindlichen blieben als dichtgelagerte linsenförmige Augen oder als flache spaltenförmige Hohlräume in der Käsemasse übrig.

B) Versuchskäschen, welche sich in ihrer Beschaffenheit den Hartkäsen näherten.

Gerinnungsdauer der Milch 35—45 Minuten. G.-Temperatur circa 35° C. Der mäßig zerkleinerte Bruch wurde nach dem Einfüllen in die Formen, sobald als es nur anging, entsprechend belastet.

Auch bei diesen Hartkäschen trat bei gewöhnlicher Zimmertemperatur stets nach 2—3 Tagen eine deutliche Blähung ein, die auch später nicht verschwand. Das Endstadium der Reife wurde bei diesen Käschen freilich aus naheliegenden Gründen nicht abgewartet. Solche circa zwei Wochen alte Käschen erwiesen sich beim Durchschneiden von zahlreichen, verschieden großen und unregelmäßig geformten Löchern durchsetzt, — bewiesen somit einwandsfrei die

Gärthätigkeit der zugesetzten Mikroben, und zwar dies um so schärfer, als in dieser Weise hergestellte Kontrollkäschen fast durchweg überhaupt ohne Augen blieben.

Wenn man berücksichtigt, daß infolge der Fabrikationsweise die Masse des Emmenthalerkäses, z. B. während des Pressens, ohne Frage eine höhere, um 40° C gelegene Temperatur besitzen muß, und wenn man bedenkt, daß diese nahe dem Optimum der Gärthätigkeit der Mikroben gelegene Temperatur infolge der üblichen großen Masse des Parakaseïns gewiß etliche Tage[1]) andauert, so ergiebt es sich ganz von selbst, daß alle jene Gärungserreger, welche in der dichten, frischen Käsemasse überhaupt sich zu entwickeln und zu gären vermögen, dies bei dieser wunderbar geeigneten Temperatur der ersten Tage mit großer Intensität thun werden. Von diesem Gesichtspunkte ausgehend, suchte ich den in den Versuchskäschen befindlichen Mikroben ähnlich günstige Temperaturverhältnisse zu bieten, wie dies ihnen die Praxis gewährt. Deshalb brachte ich solche Versuchskäschen gleich nachdem die Hauptmasse der Molkenflüssigkeit abgelaufen war (gew. 15 Stunden), samt der Form und Belastung in den Thermostaten in eine Temperatur von 24° C. Dieselbe wurde deshalb nicht höher gewählt, weil es bei dieser noch möglich war, aus guter und frischer Milch hergestellte Kontrollkäschen ohne Blähung zu erhalten.

Schon nach wenigen Stunden Aufenthaltes daselbst setzte bei mit M. S. geimpften Käschen eine intensive Gärung ein, welche dieselben typisch blähte. Dies Verhalten der M. S. beherbergenden Käschen bei höherer Temperatur, verglichen mit dem bei niedriger Zimmertemperatur, zeigt den außerordentlich großen Einfluß verschieden hoher Temperaturen auf das Zustandekommen und den Verlauf der Blähung des Käses.

Diese bis nun besprochenen Erfahrungen liefern den unzweideutigen Beweis, daß M. S. schon bei gewöhnlicher Zimmertemperatur in der Käsemasse hinreichend starke Gärung auszulösen vermag, um Blähungserscheinungen zu bedingen und somit die Rolle eines milchwirtschaftlichen Schädlings zu spielen, sowie daß dessen schädliche Wirksamkeit mit Erhöhung der Temperatur in potenzierter Weise wächst.

Ueber einen im Großen unfreiwillig ausgeführten Versuch, welcher die Thätigkeit des M. S., speziell Var. I, als Erreger der Käseblähung in der Praxis in das richtige Licht setzt, habe ich in „Abnormale Reifungsvorgänge beim Käse“ pag. 39 geschrieben und gestatte mir, darauf zu verweisen.

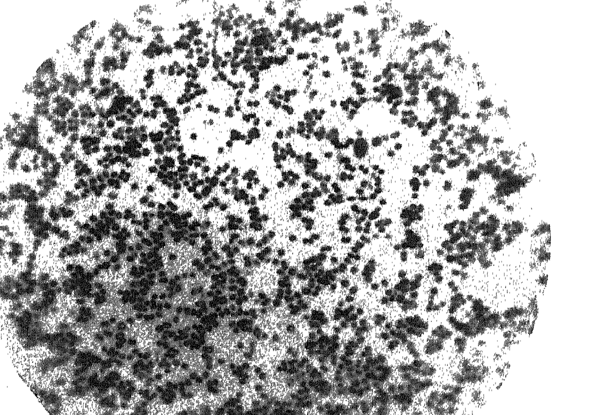
So wie M. S. Var. I ist auch M. S. Var. II ein echter Blähungserreger, worüber die Art seines Vorkommens, sein Verhalten in Milch und in Versuchskäschen hinreichend Aufklärung bietet.

Die Frage endlich, ob Micr. Sornth. I in dem einen oben erwähnten Falle wenigstens zu der Euterentzündung in Beziehung gestanden, und ob er überhaupt ein Erreger dieses Leidens sei, war

1) Leider liegen über diesen ebenso naheliegenden wie wichtigen Punkt meines Wissens keine verläßlichen Beobachtungen vor.

Fig. 1.

Fig. 2.



ich durch direkte Impfversuche leider nicht in der Lage zu entscheiden. Nach alledem, was wir dank der fundamentalen neuesten Arbeiten v. Nenki's über diese Euterentzündungserreger aus den Berichten des unter der Leitung des Genannten stehenden Instituts in St. Petersburg wissen (Recherches chimique sur les microbes produisant l'inflammation des glandes mammaires des vaches et des chèvres laitières) — unterliegt es kaum einem Zweifel, daß auch Micr. Sornth. solche zu veranlassen vermag.

Wenn wir uns nämlich der beiden Hauptsätze erinnern, welche v. Nencki auf Grund der Resultate großer und sorgfältig durchgeführter Versuchsreihen entwickelte, und welche etwa lauten: Es giebt keine spezifischen Mikroben der Euterentzündung, und ferner: Die heftigsten, ernstesten Euterentzündungen werden durch Mikroben veranlaßt, die im höheren Grade die Eigenschaften besitzen, Gärung zu veranlassen — so ergiebt sich ganz von selbst, daß auch M. S., falls er durch irgend welchen Zufall seinen Weg in die Milchcisterne des Euters findet (als fakultatives Anaërobium), in der daselbst befindlichen Milch Gärung bedingen und somit Euterentzündung veranlassen wird.

Von den bisher beschriebenen Mikrobenarten käme als M. S. ähnlich nur der Streptococcus mastitidis sporadicae in Betracht. Doch sind aus einem genauen Vergleiche der Eigenschaften beider manche nicht unwesentliche Unterschiede ersichtlich, so daß vorläufig wenigstens M. S. immerhin auf eine selbständige Stellung im Systeme Anspruch genießt.

Krakau, im Mai 1895.

Tafelerklärung.

Fig. 1. Micrococcus Sornthalii. Plattenkultur auf Milchzuckernährgelatine. Vergröfserung = 25 linear; schräge Beleuchtung.

Fig. 2. Micrococcus Sornthalii; Zellen bei starker Vergröfserung (900). Photographiert auf Perutz'sche Eosinfilterplatten; Zettnow'sches Lichtfilter in 1 cm dicker Schicht (1 : 1 verdünnt); Zirkonlicht, Sammellinse, Abbé's Beleuchtungsapparat; Zeiss' Apochromatimmersion (1,30 Apert.; 2 mm Brennweite); Projektionsocular 2.

(Photogramme von Marktanner-Adametz.)

Die peptonisierenden Bakterien der Kuhmilch.

Von

Dr. S. Sterling

in

Lodz (Polen).

Von dem Zeitpunkte an, wo die Ueberlegenheit der von pathogenen sowohl, wie die Milchverderbnis bedingenden Bakterien befreiten Milch über die sterile die Geltung eines hygienischen Dogmas erlangt hatte, war die Sterilisierung der Milch durch Hitze das allgemein geübte Verfahren.

Diese Sterilisierung erzielen wir entweder durch einfaches Abkochen der Milch auf dem Küchenherde oder Erhitzen in besonderen Apparaten unter Einhaltung gewisser, von Pasteur, Hueppe, Duclaux, Soxhlet, Flügge, Soltmann, Zawadzki und Nencki u. A. empfohlenen Vorschriften. Eine solche Milch galt bisher allgemein für steril, eine durchaus irrige Ansicht, wie sowohl die experimentelle Forschung der letzten Jahre, als auch die klinische Wahrnehmung ergeben haben.

Sior (1), Petri und Maaßen (2), Pictet und Weyl (3), Hueppe (4), Hesse (5), Flügge (6), Kramsztyk (7) u. A. haben den Nachweis erbracht, daß die „sterilisierte“ Milch durchaus nicht keimfrei, sondern nur keimarm ist.

Heubner (8), Penzoldt (9), Carstens (10) u. A. beobachteten Verdauungsstörungen bei Kindern infolge Genusses verdorbener „steriler“ Milch, die, wenn die Sterilisierung wirklich vollkommen gewesen wäre, der Verderbnis nicht hätte anheimfallen dürfen.

Wenn auch die üblichen Sterilisierungsmethoden die Mehrzahl der Keime, und unter diesen wohl alle für „pathogen“ gehaltenen vernichten, so kann trotzdem die sterilisierte Milch Ursache von Verdauungsstörungen bei Kindern werden.

Der Grund hierfür liegt darin, daß unter diesen resistenten Milchbakterien, die durch die gebräuchlichen Sterilisierungsverfahren nicht abgetötet werden, sich solche finden, die zwar an und für sich unschädlich sind, jedoch unter gewissen Bedingungen die Zusammensetzung der Milch in einer für Kinder nachteiligen Weise alterieren.

„Es unterliegt keinem Zweifel“, schreibt Kramsztyk (7), „daß die hauptsächliche, wenn nicht alleinige Ursache der Darmstörungen bei mit Kuhmilch aufgezogenen Kindern, die eine so hohe Kindersterblichkeit in den Sommermonaten bedingen, nicht in ihrer von der Frauenmilch differenten chemischen Zusammensetzung zu suchen ist, sondern ausschließlich in ihrer bakteriellen Verunreinigung, wodurch einige Milchbestandteile eine Zersetzung erfahren.“

Diese allgemein acceptierte Anschauung fand ihre Bestätigung durch die Arbeiten von Flügge (6), der speziell nachwies, welche Bakterien unseren Sterilisierungsmethoden widerstehen und welcher Milchbestandteil eigentlich in einer diese Bakterien enthaltenden Milch eine Zersetzung erleidet. Flügge (6) fand in der sterilisierten Milch Bakterien, welche das Eiweiß der Milch (besonders die Albumose) peptonisieren. Sie vermehren sich mittels Dauerkeimen bei einer Temperatur über 18° C, wobei sie das Milcheiweiß (die Albumose) in Pepton umsetzen [1]).

Die Peptonbildung läßt sich in ihren ersten Stadien durch kein sinnfälliges Symptom erkennen; erst auf einer vorgerückteren Entwickelungsstufe desselben wird die Milch bitter und hat ihr normales Aussehen verloren; man findet in ihr Kaseïnflöckchen und eine Schicht durchsichtiger, serumähnlicher Flüssigkeit.

---

1) Noch vor Flügge hatte Hueppe (11) bei seinen Untersuchungen über die Ursache des Bitterwerdens der Milch die Aufmerksamkeit auf diesen Umstand gelenkt, ohne ihn indes erklärt zu haben.

Diese durch Peptonbildung, die unter Einwirkung spezifischer Mikroorganismen zustande kommt, also veränderte Milch ist es nun, die den Kindern nachteilig wird.

Auf Anregung des Herrn Prof. Gaertner begann ich im Jenaschen hygienischen Institute eine Arbeit, die den Zweck hatte, unter Nachprüfung der Beobachtungen Flügge's einige weitere Punkte in der Frage der Peptonisierung der Milch durch spezifische Mikroparasiten zu verfolgen. Dieselbe ist sodann in meinem Privatlaboratorium soweit gediehen, daß ich mir nunmehr gestatten darf, einige Angaben darüber hier folgen zu lassen.

Die Milch zu meinen Untersuchungen bezog ich anfangs aus einem Milchsterilisierungsbetriebe, von wo sie direkt an das Institut in Jena gelangte. Da die von mir vorgenommene Untersuchung in der als „steril" in den Handel gebrachten Milch die Anwesenheit von aëroben und anaëroben Mikroorganismen nachwies, sandte mir in der Folge dieselbe Anstalt eine „zweifach sterilisierte" Milch zu. Ferner zog ich in den Bereich meiner Untersuchung die Marktmilch, dann aus anderen Sterilisierungsbetrieben bezogene, sowie endlich direkt in sterilisierte Behälter gemolkene Milch (die letzten Milchportionen aus dem Euter). Die Sterilisation führte ich nach verschiedenen Methoden (Kochen im Küchentopfe 5 resp. 30 Minuten lang, Soxhletapparat, neuer Flügge'scher Milchkocher) aus.

Die auf die eine oder andere Art keimfrei (?) gemachte Milch untersuchte ich entweder sofort nach der Sterilisierung oder beließ sie zuvor a) im Keller (resp. an einem kühlen Orte) bei 12—14° C, b) im Thermostatenkabinet bei 20—24° C, c) im Thermostaten bei 35—38° C.

Die Zahl der bei verschiedenen Verdünnungsgraden [1]) erhaltenen Kolonieen (resp. Keime) reduzierte ich auf die in einem ccm enthaltene Zahl.

Von einer Zusammenstellung detaillierter Zahlen kann ich hier füglich absehen, da sich dieselben in nichts von der von anderen Forschern gefundenen unterscheiden.

Das Eine geht aber aus diesen Zahlen wieder hervor, daß sich in der Milch immer gegen unsere üblichen Sterilisierungsmethoden resistente Bakterien vorfinden.

Weiter beweist die scheinbare Abwesenheit von Mikroorganismen in einer sterilisierten und sodann durch 24 Stunden im Thermostaten aufbewahrten Milch durchaus nicht, daß sich in ihr absolut keine finden, denn wir finden sie nach 48—72 Stunden.

Drittens sehen wir, daß sich diese Bakterien bei höherer Temperatur besser entwickeln als bei niedriger.

Viertens haben die komplizierten und kostspieligen Sterilisationsapparate keinen Vorzug vor der einfachen Milchabkochung. Um dies zu beweisen, habe ich einige einschlägige Versuche ausgeführt, welche dargethan haben, daß sich die Zahl der Mikroorganismen in einer

---

1) In der Regel entnahm ich zur ersten Verdünnung (5 ccm Nährsubstanz) 3 Tropfen der untersuchten Milch; von da übertrug ich 10 Tropfen zur zweiten, von dieser abermals 10 Tropfen zur dritten Verdünnung.

wohlabgekochten Milch (5 Minuten langes Kochen) nur wenig von einer durch 1½ Stunden im Dampfe keimfrei gemachten, resp. die nämliche Zeit auf dem Küchenherde gekochten, unterscheidet.

Die in der Milch gefundenen Anaërobengattungen alterieren dieselbe derartig, daß schon das bloße Aussehen derselben ihre Untauglichkeit dokumentiert. Die Anaëroben rufen, indem sie die Milch zersetzen, gleichzeitig Bildung übelriechender Gase hervor und bringen sie rasch und deutlich (selbst für das unbewaffnete Auge) zur Gerinnung; solche Milch gebraucht auch niemand zur Säuglingsnahrung. Die Untersuchungen in dieser Richtung verfolgten auch nur den Zweck, in der sterilen Milch auch Bakterien der Anaërobenreihe nachzuweisen. Möglicherweise haftet einigen Untersuchungen, welche „sterilisierte“ Milch für „keimfrei“ hielten, dieser Fehler an, daß sie die Anaëroben außer acht ließen [1]).

Was die Aëroben anlangt, so konnte ich fünf öfter vorkommende Gattungen isolieren.

Ehe ich aber an ihre Beschreibung gehe, muß ich die Aufmerksamkeit auf einen Punkt technischer Natur lenken, ich meine die eminente Schwierigkeit der Bereitung eines Nährbodens aus Milch, d. h. aus steriler, unveränderter Milch, was auch Flügge hervorhebt. Nicht immer war ich in der Lage, durch Sterilisierung kleiner Milchquantitäten (5—10 ccm im Reagenzglase) mittels Dampfes, die alle 24 Stunden drei- bis viermal erneuert wurde, wirklich keimfreie Milch zu erzielen. Dementsprechend galten mir auch nur solche Reagenzgläschen für steril, welche nach 7-tägigem Verweilen im Thermostaten steril blieben; ihrer Milch bediente ich mich als Nährboden. In Jena gebrauchte ich mittels Chloroform keimfrei gemachte Milch (14-tägige Einwirkung, hierauf Abdampfung).

Bei Verwendung des Dampfes zur Sterilisation der Nährböden ist es vorteilhafter, sich einer (am besten mittels Centrifuge) entfetteten Milch zu bedienen.

Die in der Milch gefundenen Gattungen: Bacillus lactis peptonans α, β, γ, δ, ε sind fakultative Aëroben. Wie weiter unten gezeigt wird, haben sie die meiste Aehnlichkeit mit Bac. subtilis, Bac. mesentericus vulgatus, Bac. mesentericus fuscus.

I. Herkunft: Milch.

II. Form: α lange, dünne; β kurze, dicke; γ ganz dünne, kurze; δ dicke, lange; ε lange, dünne Stäbchen.

III. Motilität: Stark ausgesprochen.

IV. Wachstum.

Auf neutraler Gelatine (22° C). Plattenverfahren: Wenig charakteristische Kolonieen. Stichkultur: rasche Verflüssigung des Nährbodens; α Trübung des Nährbodens, Häutchenbildung an der Oberfläche nach 48 Stunden; β erst nach mehr als 10 Tagen; γ keine

---

1) Hier muß ich bemerken, daß wir bei der Untersuchung der Milch auf Anaëroben leider gezwungen sind, von der praktischsten Methode, dem Kulturverfahren in „hoher Schicht“ (Liborius), wegen der Undurchsichtigkeit der mit Milch versetzten Nährsubstanz abzusehen. Erst wenn wir durch andere Methoden (Wasserstoff, Pyrogallussäure) Kulturen erhalten haben, können wir sie in „hoher Schicht“ aufbewahren.

Häutchenbildung; δ Häutchenbildung an der Oberfläche nach 24 Stunden; ε nach 24 Stunden.

Auf basischer Gelatine (22 ° C): Kein oder nur ganz schwaches Wachstum.

Auf Agar (37 ° C): Plattenverfahren: α gelbliche, trockene, blasse; β weißgelbliche, feuchte, glänzende; γ winzige, etwas graue, über die Oberfläche prominente; δ graue, trockene, blasse, mit Ausläufern versehene; ε winzige, in der Mitte vertiefte Kolonieen mit Ausläufern.

Auf schräg erstarrtem Agar (37 ° C): α weiße, trockene, blasse Oberfläche, in dicke Falten gelegt; β etwas große, feuchte; γ ebensolche; δ graue, stark gerunzelte; ε gelblich-graue, gerunzelte Oberfläche.

Auf Bouillon (37 ° C): Sehr rasches Wachstum; α Trübung des Nährbodens, graues Häutchen auf der Oberfläche; β zu Boden sinkende Häutchen mit flockigem Sediment; γ Häutchen auf der Oberfläche, am Boden und im Innern des Nährbodens; δ dicke, auf der Oberfläche weiße; ε ebensolche Haut.

Auf der Kartoffel (37 ° C): Sehr rasches Wachstum; α dunkler, dicker, gewulsteter Belag; β gelblich-weißer, zarter, feuchter; γ gelblicher, zarter, sich allmählich schwärzender; δ weißlicher, stark gefalteter, nach 10 und mehr Tagen sich schwärzender, die Kartoffel wie mit einem schwarzen Pulver besäender; ε weißer, zarter, feingerunzelter Belag.

In 1-proz. Peptonlösung (37 ° C): Ueppiges Gedeihen; Bildung langer Fädchen (reichlicher als auf anderen Nährböden).

In Milch: Rasches Wachstum; nach 10 und mehr Stunden makroskopisch sichtbare Veränderungen; unterhalb der Fettschicht (sofern die Milch nicht entfettet worden war) wird eine gelblich-wässerige Schicht sichtbar; darunter unveränderte Milch. Beim Schütteln der Milch vermischen sich um diese Zeit die zweite und dritte Schicht. Makroskopisch unterscheidet sich die Milch nicht von normaler. Allmählich vergrößert sich die wässerige, serumähnliche Schicht, gleichzeitig bilden sich Flocken von geronnenem Kaseïn, welche entweder zu Boden sinken oder sich gleich unterhalb der Fettschicht ansammeln.

In alkalisch gemachter (Soda) Milch: Keine Entwickelung.

In frischer, nicht sterilisierter Milch: Langsamere Entwickelung als in steriler Milch. Verzögerte Ausbildung der makroskopisch sichtbaren Veränderungen. Kaseïngerinnung in weit mächtigeren Flocken. Langsamere Bildung der serumähnlichen Schicht.

Auf eiweißfreiem Nährboden, sterilem Harn: Wachstum; bald aber treten regressive Formen auf.

Auf eiweißfreien, künstlich bereiteten Nährböden: Hier konnte ich keine Gattung kultivieren.

V. Wärmebedingungen. Das Wachsen erfolgt erst bei einer Temperatur über 16 ° C. Sein Optimum beginnt bei 24—26 ° C, ist übrigens vom Nährboden abhängig und daher schwer zu ermitteln; jedenfalls liegt es bei der Milch als Nährboden am tiefsten.

VI. Sporen. Alle Gattungen bilden Dauersporen, die entweder im Innern oder an den Enden des Bakteriums liegen. Freie Keime fanden sich am reichlichsten in Kartoffelkulturen. Ovale, elliptische Form.

VII. Färbung. Tingieren sich mit allen gebräuchlichen Farbstoffen, schnell besonders und deutlich mit „Victoriablau" (Einzelfärbung; deutliche Konturen der Keime).

VIII. Biochemische Eigenschaften. Entfärben zum Nährboden zugesetztes Lackmus; keine Gasbildung (Th. Smith's Kölbchen), keine H_2S- und NH_3-Bildung; keine Nitrosoindolreaktion. Umsetzung der Milchalbumose zu Pepton (resp. Albumose). (Ihre Einwirkung auf das Milchkaseïn habe ich nicht höher studiert; weitere Untersuchungen werden ergeben, ob sie — was zu vermuten steht — Toxine aus demselben bilden).

IX. Am schnellsten peptonisiert die Milch die β-Gattung; dann folgen an zweiter Stelle α, δ, ε, an dritter γ.

X. Die Häufigkeit ihres Vorkommens in der Milch:

α in 60 Proz.
β „ 95 „
γ „ 95 „ } der untersuchten Milch.
δ „ 30 „
ε „ 30 „

Ad I. Die genannten Bakterien gelangen in die Milch aus der Stallluft, mit dem Futterpartikelchen, aus Kuhkot, Erde und dem Staube. In der Arbeit von Bujwid (12) finde ich eine ganze Reihe von Mikroorganismen der Luft, welche in vielen Beziehungen Aehnlichkeit mit den von mir isolierten haben. Es sind das die Bakterien 62, 64, 70. Doch peptonisieren sie die Milch viel langsamer als der Bac. lactis peptonans.

Ad II. Die Bakterien reihen sich oft zu Fäden an, welche aus (bis höchstens 8) Einzelindividuen bestehen.

Größenbestimmungen der einzelnen Bakterien habe ich absichtlich nicht vorgenommen, da nach meiner Ueberzeugung in dieser Hinsicht zu große Schwankungen sich geltend machen, je nach dem Alter der Kulturen, dem Nährboden, den thermischen Verhältnissen, bei denen sie sich entwickelten u. s. f. Daher lassen sie sich auch aus der Form allein nicht differenzieren.

Ad. IV. Die Häutchen an der Oberfläche der Gelatine in der Stichkultur fielen nach 10 und mehr Tagen zu Boden.

In nicht sterilisierter Milch erzeugte die Infektion mit peptonisierenden Mikroparasiten weniger rasche Peptonbildung als in steriler. Offenbar bleiben in dem Kampfe der verschiedenen Milchbakterien um das Dasein die peptonisierenden nicht absolute Sieger, vielleicht dank der ausgesprochen saueren Reaktion einer solchen Milch.

Ad VIII. Den Nachweis des Peptons in der Milch führte ich in folgender Weise: Vor allem untersuchte ich die Milch gleich nach der Sterilisierung. Zu 50 ccm Milch setzte ich neutrales Ammoniumsulfat in Ueberschuß zu und erhitzte sie unter Umrühren 15 Minuten lang im Wasserbade. Die Mischung wurde dann heiß filtriert. Nach völliger Abkühlung des goldgelben Filtrates führte ich die Biuretprobe aus; ich goß zum Filtrate (in einer Porzellanabdampfschale) die gleiche Menge einer gesättigten Sodalösung und erhielt nach dem Umrühren eine gallertige (bei niedrigerer als Zimmertemperatur eine krystallinische) Masse unter reichlicher Entwickelung von NH_3

Dämpfen; dieselbe sonderte sich bald von der hellgelben Flüssigkeit ab, welche ich filtrierte; zum Filtrate wurde eine Lösung von Kupfersulfat (2 : 100) kalt zugesetzt. Schon der erste Tropfen des Kupfersulfats färbte die hellgelbe Flüssigkeit blau. Auf diese Weise konnte die Abwesenheit von Pepton in der frisch sterilisierten Milch nachgewiesen werden [1]).

In ähnlicher Weise untersuchte ich eine unter Einfluß der von mir isolierten Bakterien alterierte Milch. Der Zusatz von einem resp. einigen Tropfen Cupr. sulfuric. ergab sofort eine Rosafärbung; ein weiterer tropfenweiser Zusatz des gleichen Reagens änderte den Hochrosa-Farbenton in einen violetten. Erst größere Mengen des Reagens erzeugten blauviolette Färbung des untersuchten Filtrates [2]).

Je nach der Bakteriengattung (einer der fünf Gattungen), der Dauer ihrer Einwirkung, der in die Milch eingeführten Menge, der Temperatur, bei welcher die Milchprobe gehalten wurde, fiel die Peptonreaktion deutlicher (die Rosa- und Violettfärbung hielten bei abermaligem Zusatze von Kupfersulfat länger an) oder weniger deutlich (rascher Uebergang zur bläulichen Verfärbung) aus.

Zusatz von baktericiden Mitteln (wie Salicyl-, Borsäure, Sublimat) zum Nährboden (Milch) schützte die Milch vor Peptonisierung.

Um nun festzustellen, ob die Peptonisierung der Milch allein von den biologischen Eigenschaften der abgesonderten Bakterien, oder vielleicht auch von der Einwirkung chemischer, von denselben gebildeten Stoffe (Ferment) abhänge, verfuhr ich folgendermaßen: Eine ca. 2 Wochen alte Kultur des peptonisierenden Bakteriums filtrierte ich durch das Filter „Nordtmeyer-Berkefeld“ mittels des Apparates von Müncke und setzte das Filtrat 1) zur sterilen Milch, 2) zur mit Karbolsäure versetzten Gelatine (10 Proz.).

Die so infizierte Milch zeigte makroskopisch keine Veränderung; keine Verflüssigung der Gelatine.

Diese Thatsache steht in Widerspruch mit der Wirkungsweise sämtlicher bisher bekannten peptonisierenden Bakterien, welche diese ihre Fähigkeit dem von ihnen abgesonderten chemischen Stoffe (Ferment) verdankten.

Giebt die Anwesenheit von Peptonen in der Milch uns das Recht, eine solche Milch als schädlich zu bezeichnen?

Die Verabreichung von laboratoriell verfertigtem Pepton durch längere Zeit reizt ohne Zweifel den Verdauungskanal (19—23). Gleichzeitig haben aber die Forschungen der letzten Jahre ergeben, daß die im Handel unter der Bezeichnung „Pepton“ kursierenden Präparate nur sehr geringe Menge chemisch reinen Peptons, des Endproduktes des entsprechenden Eiweißzerfalles, enthalten. Die Güte des Peptons hängt eben ab von der Anwesenheit der chemischen Vorstufen des Peptons bei geringen Mengen dieses letzteren. Deshalb wird bei der fabrikmäßigen Darstellung des Peptons der Prozeß

---

1) Die Abwesenheit von Pepton in der frischen Milch konstatierten Hofmeister (14), Dogiel (15), Sebelien (16), Sior (17), Toch (18).

2) Zum Nachweise von Pepton bediente ich mich auch der Probe von Almén (Gerbsäure); doch ergab sie mir weniger deutliche Resultate als die Biuretreaktion, welche ich im allgemeinen für die praktischere halten möchte.

der Peptonisierung früh abgebrochen, noch ehe die ganze verabreichte Menge in das Stadium des Peptons (Kühne) gelangt. Anders bei der Peptonisierung der Milch: die entsprechenden Bakterien bringen die Milchalbumose bis zur vollständigen Peptonisierung, bis zur massenhaften Peptonbildung. Darum wirkt peptonisierte Milch unbedingt reizend auf den kindlichen Verdauungstraktus.

Weitere Untersuchungen werden festzustellen haben, ob die erwähnten Mikroorganismen außer Pepton noch andere schädliche Stoffe (resp. Toxine) erzeugen, und ob und in welcher Richtung sie das Kaseïn verändern.

Resumé: Sowohl in der abgekochten wie auch in der nach den heute üblichen Verfahren durch Hitze sterilisierten Milch finden sich stets Mikroorganismen, welche sich mit Hilfe von Dauerkeimen vermehren.

Diese Mikroorganismen gehören sowohl den Gattungen der Aëroben wie Anaëroben an; sie vermehren sich bei einer Temperatur über 16° C.

Unter den Aëroben der sterilisierten Milch finden sich peptonisierende Gattungen. Je günstigere Existenzbedingungen sie finden, je zahlreicher sie vertreten sind, um so rascher und massenhafter tritt das Pepton in der Milch auf.

Diese Bakterien nannte ich mit Rücksicht auf ihre Herkunft und Eigenschaften: Bacillus lactis peptonans α, β, γ, δ, ε. Sie haben in vielen Beziehungen Aehnlichkeit mit den Stäbchen Flügge's (6) No. VII, I, XII, VIII und IX und Bujwid's (12) No. 62, 64, 70.

Peptonhaltige Milch erweist sich als besonders schädlich für den kindlichen Organismus, welcher weit weniger resistent ist gegen alle die Darmfunktion schädigenden Einflüsse.

Die Magendarmkrankheiten von mit Kuhmilch aufgezogenen Säuglingen hängen möglicherweise zum Teil mit dem Milchpepton zusammen.

Diesen Faktor muß man neben den anderen, die Verdauung mit Kuhmilch aufgezogener Säuglinge beeinträchtigenden Momenten berücksichtigen. Diese letzteren sind: 1) pathogene Keime in der Milch (die durch Sterilisierung der Milch abgetötet werden), 2) Toxine verschiedener Bakterien (ihre Menge hängt ab von der Art der Bakterien und der Zeit, welche zwischen der Infektion der Milch und ihrer Sterilisation resp. Verabreichung liegt, sowie von den Bedingungen, unter denen die Milch bis dahin verblieben war), 3) giftige Bestandteile des Viehfutters (desgl. machen einige Rinderkrankheiten die Milch schädlich), 4) unverdauliche oder schwerverdauliche, neben der Kuhmilch gereichte Nahrung, und 5) Störungen in der Wärmeökonomie des kindlichen Organismus (Flügge).

Die vom Milchpepton abhängigen Störungen erreichen ihr Maximum in den Monaten mit hoher Lufttemperatur.

Die Menge des Peptons in der Milch hängt ab von der Art ihrer Aufbewahrung von der Melkezeit bis zum Augenblicke des Konsums; ferner von der Reinlichkeit der Stallluft, der Kuheuter, der Melkerhände u. dergl. m.

Es ist eine leichtere Aufgabe, die Milch sachgemäß aufzubewahren, als das Hineingelangen von peptonisierenden Bakterien zu verhüten.

Die Aufbewahrung der Milch muß auf der Kenntnis der Thatsache beruhen, daß die peptonisierenden Bakterien der Milch sich unter einer Temperatur von 16 ⁰ C nicht vermehren. Es ist das große Verdienst Flügge's, auf diesen Umstand hingewiesen zu haben.

Keines der üblichen Milchsterilisierungsverfahren macht die Milch keimfrei; niemals werden dabei die peptonisierenden Bakterien vernichtet.

Die kostspieligen Sterilisierungsapparate sind verwerflich.

Die Spezialbetriebe zur Versorgung der Säuglinge mit Kuhmilch sollten ihr Bestreben nicht auf die Einrichtung kostspieliger Sterilisatoren, sondern auf die Verbesserung der Milchqualität (Gesundheit der Kühe, gutes Futter, Reinheit der Stallungen, Milchgeschirre, des Personals, Aufbewahrung und Transport der Milch u. dergl.) richten.

Das einfachste und leichteste Sterilisierungsverfahren ist die Abkochung der Milch in reinen Gefäßen auf dem Küchenherde oder im Wasserbade.

Zum Zwecke der leichteren Reinhaltung empfiehlt es sich jedoch, die Milch in kleinen, in wohlverschlossene Flaschen gefüllten Rationen abzukochen (Soxhletmethode).

Die abgekochte Milch muß bei einer Temperatur unter 16 ⁰ C aufbewahrt werden.

Mangels eines Eisschrankes muß die abgekühlte Milch in kaltem Wasser aufbewahrt werden; zu diesem Zwecke wird das die Milch enthaltende Gefäß in ein größeres, mit (von Zeit zu Zeit zu erneuerndem) kaltem Wasser gefülltes eingestellt.

Milchvorräte dürfen nicht aufbewahrt werden.

Peptonhaltige Milch unterscheidet sich nicht immer von normaler.

Sterilisierte Milch unterliegt der Peptonisierung leichter als rohe.

Die peptonisierenden Bakterien beeinflussen das Eiweiß unmittelbar, nicht etwa mittelbar durch irgend einen von ihnen abgesonderten chemischen Körper (Ferment).

Der bittere Geschmack der Milch, welcher bisher allein dem Einflusse des Viehfutters oder der Anwesenheit von Eiterkörpern (24) zugeschrieben wurde, hängt möglicherweise von der Anwesenheit von Pepton in der Milch ab.

Litteratur.

1) Sior, Jahrb. f. Kinderheilk. N. F. Bd. XXXIV. 1892.
2) Petri und Maaßen, Arbeiten a. d. K. Gesundheitsamte. Bd. VII. 1891.
3) Pictet und Weyl, Berl. klin. Wochenschr. 1891. No. 41.
4) Hueppe, Berl. klin. Wochenschr. 1881. No. 29.
5) Hesse, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XIII. p. 42.
6) Fluegge, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XVII. p. 319.
7) Kramsztyk, Jahrb. f. Kinderheilk. N. F. Bd. XXXVII. p. 249.
8) Heubner, Verhandl. der Gesellsch. für Kinderheilk. 1887.
9) Pentzoldt, Ber. der ärztl. Bezirksv. Erlangen. 1888.
10) Carstens, Arbeiten aus der päd. Klinik Leipzig. 1893.
11) Hueppe, Berl. klin. Wochenschr. 1891. p. 717.
12) Bujwid, Pam. Tow. Lek. Warsz. 1893. [Polnisch.]
13) Neumeister, Zeitschr. f. Biol. N. F. Bd. VIII. 1890.
14) Hofmeister, Zeitschr. f. phys. Chem. Bd. II. 1878. p. 288.
15) Dogiel, Zeitschr. f. phys. Chem. Bd. IX. H. 6. p. 600.

16) Sebellien, Zeitschr. f. phys. Chem. Bd. XIII. p. 153.
17) Sior, Jahrb. f. Kinderheilk. N. F. Bd. XXXVII. 1894.
18) Toch, Arch. f. Kinderheilk. Bd. XVII. 1894.
19) Zuntz, Arch. f. d. ges. Phys. Bd. XXXVII.
20) Munk, Dtsch. med. Wochenschr. 1889.
21) Cahn, Berl. klin. Wochenschr. 1893. p. 604.
22) E. Pfeiffer, Berl. klin. Wochenschr. 1885.
23) Neumeister, Dtsch. med. Wochenschr. 1893. No. 36.
24) Stutzer, Nahrungs- und Genußmittel. 1894. p. 170.

Die von den Mikroben bedingte Inversion des Rohrzuckers.

[Aus dem hygienischen Institute der k. Universität Rom.]

Vergleichende Studien

von

Privatdozent Dr. **Claudio Fermi**

und

Dr. **Giuseppe Montesano.**

Prospekt der Arbeit.

Unsere Kenntnisse über die Inversion des Zuckers seitens der Spaltpilze waren bis jetzt sehr gering. Unsere Forschungen strebten danach, zu konstatieren:

1) Welche Mikroben Rohrzucker invertieren.

2) Welchen Einfluß die Reaktion des Nährsubstrates auf die Inversion ausüben kann.

3) Welchen Einfluß man dem Vorhandensein von Rohrzucker, Glycerin oder Traubenzucker auf die von den Mikroben ausgehende Ausscheidung von Invertin zuschreiben darf.

4) Wie lange Zeit nach der Impfung das Vorhandensein von Invertin in den Kulturen nachgewiesen werden kann.

5) Welche Mikroben auf eiweißfreiem Nährboden Invertin ausscheiden.

6) Verhalten zum Porzellanfilter.

7) Welchen Einfluß die Wärme und einige chemische Substanzen (Alkalien, Säuren u. s. w.) auf das Invertin und dessen Ausscheidung von seiten der Mikroben ausüben.

8) Verhalten des Invertins zur Dialyse.

1) Mikroben, welche in neutralisierter, mit Zucker versetzter Bouillon den Rohrzucker invertieren.

Mit der Inversion des Rohrzuckers haben sich bis jetzt mehrere Forscher beschäftigt.

Gayon[1]) bewies die invertierende Wirkung einiger Arten von

---

1) Bull. Soc. chim. No. 35. 58.

Aspergillus und Penicillium, ohne sie jedoch jemals in den Mucorarten nachweisen zu können.

Borquelot[1]) beschäftigte sich mit der invertierenden Wirkung des Aspergillus niger, aus dessen Kulturen er ein wirkliches Invertin gewann.

Hansen[2]) bewies eine invertierende Wirkung in der Mehrzahl der wirklichen Saccharomyceten, Saccharomyces membranefaciens ausgeschlossen, verneinte sie jedoch für mehrere keine Endosporen bildende Saccharomyceten und für die Mucorarten.

Beyerinck[3]) bewies die invertierende Wirkung des Sacch. Kephir und des Sacch. Tyrocola auf Rohrzucker wie auf Traubenzucker.

Kellner, O. Mori und M. Nagaoka[4]) schrieben dem Eurotium Oryzae eine invertierende Wirkung zu.

Was die Spaltpilze betrifft, so schrieb Hueppe[5]) dem Bac. acidi lactici eine derartige Wirkung zu, was jedoch später von Bourquelot vollständig widerlegt wurde.

M. Gayon maß dem Bac. anthracis invertierende Eigenschaften bei.

Miller und Aberlarse[6]) verhandelten über einige im Verdauungskanale des Menschen gefundene invertierende Mikroben, ohne jedoch strenge Beweise vorzulegen.

Einer von uns (Fermi)[7]) untersuchte die invertierende Wirkung von 62 verschiedenen Mikroorganismen und fand, daß unter ihnen nur der Bac. megaterium und der Bacillus des Kieler Hafens beständig und sicher invertieren.

Zuletzt fand Sclavo[8]), als er die biologischen Eigenschaften der verschiedenen Spirillen studierte, daß unter ihnen besonders der Cholerabac. und der Bac. Metschnik. in der gewöhnlichen mit Zucker versetzten Nährbouillon invertierende Eigenschaften, wenn auch nicht konstant, entwickelten. Eine beständige Wirkung erzielte man mit Zuthat eines Ueberschusses von Magnesiumoxyd zur Bouillon, um damit die eventuell während der Entwickelung der Mikroben sich bildenden Säuren zu neutralisieren, welche nach der Meinung des Verf.'s die Unbeständigkeit verursachten.

Für unsere Nachforschungen gebrauchten wir die auf gewöhnliche Art zubereitete und neutralisierte Bouillon mit Zuthat von 4 Proz. reinen Rohrzuckers und einer gesättigten Lackmuslösung bis zur Erreichung einer deutlich bläulichen Färbung.

Nach Verteilung der Bouillon in Reagensgläser wurden die verschiedenen Mikrobenarten eingeimpft und stellte man dann die Kulturen in den Brütofen bei einer Temperatur von ungefähr 30°. In den nächstfolgenden Tagen beobachtete man die Reaktionsveränderungen der

1) Compte rendu. T. XCVII.
2) Compte rendu des travaux du labor. de Carlsberg. Vol. II. p. 144—167.
3) Centr. f. Bakt. Bd. IV. 1885.
4) Zeitschr. f. phys. Chemie. Bd. XIV. 1890. p. 297.
5) Compte rendu. T. XCVIII.
6) Dtsch. med. Wochenschr. 1893. No. 49.
7) Annali dell' Ist. d'Ig. sperim. di Roma. V—II. fasc. II.
8) Roma 1892.

verschiedenen Kulturen und nach nicht weniger als 14 Tagen, ihre Reinheit mittels Plattenkulturen bestätigend, unterwarf man sie den Traubenzuckerproben.

Zu diesem Zwecke gebrauchten wir das Nylander'sche und das Rubner-Penzoldt'sche (Ammoniak und basisch essigsaures Blei) Reagens. Wir zogen diese beiden dem Fehling'schen Reagens vor, da letzteres in Gegenwart von Albumin bekanntlich einen grofsen Teil seiner Empfindlichkeit einbüfst und so nicht geringe Quantitäten Traubenzucker manchmal unbemerkt vorübergehen können.

Da wir aber mit dem Nylander'schen Reagens selbst in absolut zuckerfreien Kulturen manchmal einen schwarzen Niederschlag entstehen sahen, so dachten wir nach ihm auch noch die Rubner-Penzoldt'sche Probe auszuführen, welche, obwohl weniger empfindlich, doch keinen der vorhergenannten Nachteile darbot und je nach der Intensität der Färbung uns einen ziemlich annähernden quantitativen Wert geben konnte. Wir haben nur die mit beiden Reagentien übereinstimmenden Resultate in Betracht gezogen.

Experimentiert wurde mit folgenden Mikrobenarten:

Bac. pyocyaneus, B. typhi, B. neapolitanus, B. coli communis, B. diphtheriae, B. rhinoscleromatis, B. Friedländeri, B. murisepticus, B. cuniculicida, B. cavicida, B. chol. gallinarum, B. des Schweinerotlaufs, B. diphtheriae columbarum, B. anthracis, B. alliaceus, B. der Schweineseuche, B. indicus, B. megaterium, B. radiciformis, B. subtilis, B. Odessae, B. acidi lactici, B. des Kieler Hafens, B. fluorescens, B. fluorescens liquefaciens, B. prodigiosus, Proteus vulgaris, Prot. mirabilis, Prot. Zenkeri, Spirillum cholera asiat., Spir. Finkleri et Priori, Spir. Deneki, Spir. Metschnikovii, Spir. Millerii, Staph. pyog. aureus, St. pyog. albus, St. pyog. citreus, St. cereus flavus, St. tenuis, Streptoc. erysipelatis, Strept. pyogenes, Micrococc. tetragenus, Micr. viscosus, Micr. masthitis, Bac. pyog. foetidus, B. der blauen Milch, B. luteus, B. typhi similis, B. Fitzii, B. cinnabarum, Sarcina alba, Sarc. rubra, Sarc. lutea, Sarc. aurantiaea, rosa Hefe, weiße Hefe, schwarze Hefe, Streptothr. actinomyces, Streptothr. violacea, Streptothrix carnea, Streptothr. alba, Streptothr. albidoflava, Streptothr. Eppingeri, Streptothr. nigra, Oidium albicans.

Resultate. Aus den Ergebnissen von fünf aufeinander folgenden, mit den verschiedenen Mikroorganismen (deren Wachstum immer mittels Plattenkulturen kontrolliert wurde) angestellten Versuchen konnte man den Schluß ziehen, daß Invertzucker in gezuckerter Bouillon nur von folgenden Mikroben erzeugt wird: Bac. megaterium, B. des Kieler Hafens, Proteus vulgaris, B. fluorescens liquefaciens und unter den Hefepilzen die weiße und die rosa Hefe.

Unbeständig im Gegenteil ist die invertierende Wirkung der Spirillen der Cholera und von Metschnikoff.

Man konnte auch diesen anderen Schluß ziehen, daß außer den schon von Fermi[1]) studierten Mikroben noch anderere existieren, welche gar keine invertierende Wirkung in gezuckerter Bouillon hervorbringen; solche sind: Bact. coli commune, Bac. typhi similis, B. diphtheriae columbarum, B. diphtheriae hominis, B. der Schweineseuche, Staphyl. pyogenes aureus, Staphyl. pyog. albus, Staphyl. pyog. cereus flavus, Strept. erysipelatis, Strept. pyogenes, Microc. pyog. tenuis, Soorpilz, Proteus mirabilis, Prot. Zenkeri, Bac. alliaceus, B. Odessae, B. fluorescens non liquefaciens, B. luteus, Sarcina alba, Sarc. lutea.

Endlich wurde noch bewiesen, daß durch Einimpfung in gezuckerte Bouillon folgende Mikroben Säuren erzeugen: Bac. typhi, B. typhi similis, B. diphtheriae, B. Friedländeri, Spir. cholerae asiaticae, Spir. Finkleri et Priori, Spir. Deneki, Spir. Metschnikovi, Spir. Milleri, Bac. anthracis, B. pyogen. phoetidus, B. cavicida (Brieger), Staph. aureus, Staph. citreus, Staph. albus, Staph. cereus flavus, Micr. pyog. tenuis, Strept. erysipelatis, Strept. pyogenes, B. des Schweinerotlaufs, B. megaterium, B. radiciformis, B. subtilis, B. Fitz, B. luteus, B. acidi lactici, B. indicus, Prot. vulgaris, Microc. tetragenus, Micr. viscosus, Bac. prodigiosus, Oidium albicans.

2) Mikroben, welche in mit einem Ueberschusse von Alkali behandelter gezuckerter Bouillon invertieren.

Um zu konstatieren, bis zu welchem Grade der von seiten der Mikroben hervorgebrachten Inversion die Produktion von Säuren schaden könnte, wiederholten wir, den Hypothesen Sclavo's[2]) folgend, seine eigenen Experimente, d. h. wir fügten der gezuckerten Bouillon einen Ueberschuß von Magnesiumoxyd zu. Während der der Impfung nächstfolgenden Tage, als wir in den oberen Schichten der Flüssigkeit eine nach und nach sauer werdende Reaktion vorfanden, schüttelten wir die Reagensgläser bis zu der infolge der Wirkung des zu Grunde liegenden Magnesiumoxyds vollständigen, mit dem Wiederkehren der bläulichen Farbe des zugesetzten Lackmus zu gewahrenden Neutralisation der Flüssigkeit.

Wir wollten nicht nur mit Spirillen und mit den anderen Mikroben experimentieren, von welchen wir eine Säurebildung in der neutralen, gezuckerten Bouillon konstatiert hatten, sondern auch alle anderen vornehmen, um zu sehen, in wie weit eine übermäßig alkalische Reaktion ihren Einfluß auf die von den Mikroben verursachte Inversion ausüben könne.

14 Tage nach der Impfung wurde in den Kulturen die Probe des Traubenzuckers vorgenommen, und erzielten wir folgende Resultate:

Keiner der Mikroben, welche Säuren produzieren, ohne in der gezuckerten, neutralen Bouillon Invertzucker zu bilden, üben eine in-

1) S. l. c
2) S. l. c.

vertierende Wirkung in der übermäßig alkalischen, gezuckerten Bouillon aus. In dieser Bouillon bleibt dann die Inversion von seiten der Spirillen inkonstant, im Gegensatze zu den Erfahrungen Sclavo's, und wollen wir bemerken, daß zu diesem Zwecke noch zahlreichere Versuche als mit den anderen Mikroben veranstaltet wurden, um eben die Sache genau ins Klare zu bringen.

Bemerkenswert ist die Thatsache, daß nicht alle Mikroben, welche in der neutralen, gezuckerten Bouillon invertieren, selbige Eigenschaft in der übermäßig alkalischen Bouillon beibehalten, und daß diese Eigenschaft nicht nur von der weißen und zum Teil auch von der rosa Hefe, deren Wachstum auf diesem Nährboden sehr schwach ist, sondern auch vom Prot. vulg. und Bac. fluoresc. liquef., deren Wachstum im Gegenteil sehr üppig ist, verloren wird. Es ist nicht leicht, sich dieses letzte Faktum zu erklären; man könnte denken, daß das Uebermaß von Alkali die Bildung des Enzyms seitens der Mikroben verhindere, oder das ausgeschiedene Enzym zerstöre und es inaktiv mache.

Andere Forschungen beachtend, die wir später darlegen werden, aus welchen hervorgeht, daß die Quantität des vom Bac. fluor. liquef. und dem Proteus vulg. einerseits und vom Bac. megat. und dem des Kieler Hafens andererseits ausgeschiedenen invertierenden Enzyms ziemlich die gleiche, und die von den verschiedenen physischen und chemischen Faktoren auf das Enzym dieser verschiedenen Mikroben ausgeübte Wirkung ebenfalls die gleiche ist, werden wir doch dahin geführt, die schädliche Wirkung des Alkaliexcesses hier zu bezweifeln, ob sie sich gerade auf das Enzym bemerkbar mache, da für die anderen beiden Mikroben nicht das gleiche Resultat erzielt wurde. Wir nehmen also als wahrscheinlicher an, daß das Alkali direkt auf den Mikroben schädlich wirkt, indem es ihn daran verhindert, das invertierende Enzym zu produzieren.

Endlich müssen wir noch hervorheben, daß nicht alle eingeimpften Mikroben in der übermäßig alkalischen, gezuckerten Bouillon ein Wachstum aufweisen, und zwar entwickelten sich gar nicht: Bac. diphtheriae, B. rhinoscleromatis, Streptoc. erysipel., Strept. pyog., Bac. cinnab., Strept. actinom., schwarze Hefe, Bac. cuniculicida, B. cavicida, B. tetragenus, Sarc. alba, Sarc. aurantiaca.

3) Mikroben, welche in leicht saurer, gezuckerter Bouillon invertieren.

Nachdem wir den Einfluß einer mehr oder weniger alkalischen Reaktion auf die Inversion seitens einiger Mikroben konstatiert hatten, war es uns von Interesse, auch mit leicht saurer Bouillon zu experimentieren, um zu sehen, ob auch diese in der Inversion Varianten bestimmen könnte. Wir bedienten uns zu diesem Zwecke der gewöhnlichen, mit Zucker versetzten, nicht neutralisierten, folglich leicht sauren Bouillon.

14 Tage nach der Einimpfung wurde die Zuckerprobe abgehalten und erhielten wir folgende Resultate:

Nicht alle eingeimpften Mikroben kamen in der nicht neutrali-

sierten Bouillon weiter, und zwar entwickelten sich gar nicht folgende: Bac. murisepticus, B. rhinoscleromatis, B. luteus, Strept. actinomyces, B. des Schweinerotlaufes. Alle Mikroben, welche in der neutralen, gezuckerten Bouillon eine invertierende Wirkung besaßen, behielten hier diese Eigenschaft bei, und auch eine Varietät von Choleraspirillen (Cholera von Massaua) übte eine inkonstante, invertierende Wirkung aus.

Unter den in saure, gezuckerte Bouillon eingeimpften Mikroorganismen ersahen wir endlich, daß nur wenige das Nährsubstrat neutral oder alkalisch machen, und zwar sind es folgende: Bac. pyocyaneus, B. cuniculicida, B. cavicida, B. Emmerichi, B. der blauen Milch, Proteus Zenkeri, Prot. mirab., Bac. fluorescens, B. fluor. liquef., B. viscosus.

Sämtliche bisher erhaltene Resultate zusammenfassend, finden wir, daß, je nach der Reaktion der Bouillon, von den in Betracht gezogenen Mikroorganismen folgende invertieren:

A. In neutraler oder leicht alkalischer, gezuckerter Bouillon:
- Bac. megaterium,
- „ des Kieler Hafens,
- Proteus vulgaris,
- Bac. fluorescens liquefaciens,
- weiße Hefe,
- rosa Hefe,
- Vibrio cholerae (unbeständig),
- „ Metschnikovi (unbeständig).

B. In übermäßig alkalischer, gezuckerter Bouillon:
- Bac. megaterium,
- „ des Kieler Hafens,
- weiße Hefe (schwach),
- Vibrio cholera (unbeständig),
- „ Metschnikovi (unbeständig),

C. In leicht saurer, gezuckerter Bouillon:
- Bac. megaterium,
- „ des Kieler Hafens,
- „ fluorescens liquefaciens,
- Proteus vulgaris,
- weiße Hefe,
- rosa Hefe
- Vibrio cholerae, Variet. Massaua (unbeständig).

Aus dieser kleinen Tabelle ist zu ersehen, daß die Reaktion der gezuckerten Bouillon für Bac. megat., B. des Kieler Hafens und weiße Hefe auf die Ausscheidung des Invertins und auf dessen Wirkung keinen Einfluß ausübt; das Gleiche kommt bei den anderen Mikroben nicht vor.

Zuletzt müssen wir noch bemerken, im Gegensatze zu Gayon und Hüppe[1]), daß, wie es aus unseren bisherigen Untersuchungen hervorgeht, wir die Inversion seitens des Bac. anthracis und des Bac. acidi lactici nie haben konstatieren können.

(Schluß folgt.)

---

1) S. l. c.

Eine neue Oelflasche.

Von

H. Horne,

Assistenten am veterinär-pathologischen Laboratorium

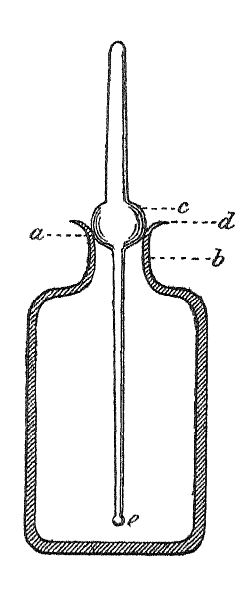
in

Christiania.

Mit 1 Figur.

Wer das Mikroskop gebraucht, wird erfahren haben, daß es schwer ist, seine Hände, Oelflasche und seinen Arbeitstisch frei von Oel zu halten, d. h. daß die im Handel gehenden gewöhnlichen Oelflaschen meistens unpraktisch sind. Ich habe deswegen eine neue einfache Flasche konstruiert, die ich seit ungefähr einem Jahre geprüft und für empfehlenswert gefunden habe.

Eine Oelflasche muß derartig konstruiert sein, daß sie mit einer Hand leicht und rasch zu öffnen ist, daß man einen Oeltropfen herausnehmen und die Flasche wieder sicher schließen kann, ohne daß das Oel über die Flasche fließt.



Die Flasche ist 15—20 ccm groß, aus hellem, farblosem Glase und mit einer cylindrischen Halsöffnung versehen; der obere Teil des Halses muß trichterförmig sein (cf. Fig. 1 *b* und *d*). Der Stöpsel wird aus einem Glasstabe gebildet, an welchem eine Kugel (*c*) angefertigt ist; diese muß sehr sorgfältig angepasst werden, denn sie muß die Flasche nur an dem Uebergange zwischen dem cylindrischen und dem trichterförmigen Teile des Halses berühren (*a*); übrigens muß die Kugel und der Flaschenhals so weit wie möglich von einander entfernt sein. In dieser Beziehung mache man die Kugel nicht zu groß. Unten an der Kugel wird der Glasstab dünn ausgezogen und an dem Ende mit einer kleinen Kugel versehen (*e*). Oben, ca. 4 cm von der Kugel entfernt, wird der Glasstab abgebrochen und abgerundet und die Flasche ist fertig.

Die Vorteile dieser Flasche sind, daß sie leicht anzufertigen ist, daß der Stöpsel immer leicht zu entfernen ist, daß Stöpsel und Flasche einander nur an einem Kreise berühren, sowie daß das Oel nicht über, sondern in die Flasche zurückfließt und den Hals mit einer wenig verdunstenden Flüssigkeit feuchtet, so daß das Verschließen ein vollständiges wird.

Das Oel habe ich niemals sich trüben gesehen und die Flasche ist immer rein und sauber.

Zusammenfassende Uebersichten.

Ueber die pflanzlichen Schädlinge der Zuckerrübe.

Sammelreferat

von

A. Stift,
Adjunkten an der Versuchsstation für Rübenzuckerindustrie
in
Wien.

Die Zuckerrübe ist nicht nur ein willkommenes Angriffsobjekt für viele tierische Feinde, sondern sie ist auch vielen parasitären Krankheiten unterworfen. Die Litteratur über vorliegenden Gegenstand ist schon eine außerordentlich große und immer treten neue Erscheinungen auf, die für den Zuckerrübenbau von höchster Wichtigkeit sind. Trotz eingehenden Studiums sind aber noch viele Rübenkrankheiten lange nicht genügend erforscht; es giebt ferner noch viele Fragen zu beantworten, deren Lösung sich im tiefen Dunkel befindet. Leider haben wir auf vorliegendem Gebiete kein Spezialwerk über die pflanzlichen und tierischen Schädlinge der Zuckerrübe, ein Umstand, der bei der Wichtigkeit der Sache sehr zu bedauern ist. Allerdings ist Deutschland gegenüber den anderen rübenbautreibenden Ländern in der glücklichen Lage, nicht nur in der deutschen Landwirtschaftsgesellschaft durch den „Sonderausschuß für Pflanzenschutz“, sondern auch durch die „Versuchsstation für Nematodenvertilgung und Pflanzenschutz in Halle a. S.“ Anstalten zu besitzen, die bereits Ersprießliches geleistet und durch ihre Publikationen über viele Rübenkrankheiten Aufklärung und Belehrung in die Kreise der Landwirtschaft getragen haben. Durch die Gelehrten, welche an diesen Anstalten thätig sind, wurde nicht nur die Theorie bedeutend gefördert, sondern auch durch Wort und Schrift die Praxis wesentlich unterstützt. Immerhin bleibt aber, wie schon eingangs bemerkt, noch Vieles zu thun übrig, bis es der Wissenschaft gelungen sein wird, gerade über manche viel verbreitete Krankheiten das letzte Wort sprechen zu können. Dazu kommt, daß es hier nicht das Ziel der Wissenschaft allein sein kann, nur die Natur und das Wesen, die Entwickelung und die Verbreitungsfähigkeit irgend einer parasitären Krankheit festzustellen, sondern daß auch die Wissenschaft bestrebt sein muß, Mittel zur Bekämpfung des betreffenden Parasiten anzugeben.

Da es in dem engen Rahmen eines Sammelreferates bei der Fülle des zerstreuten, in der Litteratur sich vorfindenden Materiales nicht möglich ist, auf alle pflanzlichen Schädlinge der Zuckerrübe mit Hervorhebung ihrer Entwickelungsgeschichte und ihrer Verbreitungsfähigkeit eingehend hinzuweisen, so sollen nur jene Rübenparasiten Hervorhebung finden, die bereits in der Praxis in beunruhigender Weise aufgetreten sind oder unter Umständen empfindlichen Schaden verursacht haben.

Man kann im allgemeinen Krankheiten des Rübenblattes und der Rübenwurzel unterscheiden. Eine strenge Grenze läßt sich jedoch nicht ziehen, da manche Parasiten nicht nur die Blätter allein befallen, sondern sich auch an der Wurzel festsetzen und daher unter Umständen die gesamte Rübenpflanze vernichten können.

Als Ursache der Rübenkrankheiten sind parasitische Pilze anzusehen, obwohl manche Krankheitserscheinungen auch auf den Angriff tierischer Feinde zurückgeführt werden. Die parasitären Pilze ernähren sich von den Geweben der Rübenpflanze, wobei sie im leichtesten Falle das Wachstum schädigen, so daß sich die Pflanze nur langsam erholt und das Versäumte schwer wieder einbringt. In vielen Fällen sind aber diese kryptogamen Parasiten furchtbare Feinde, da sie die Rübenpflanzen vollständig vernichten und daher dem Rübenbau bedeutenden Schaden zufügen.

Was nun zuerst die Krankheiten des Rübenblattes anbetrifft, so ist als eine schon längst bekannte Krankheit der Rost der Runkelrübenblätter — Uromyces Betae — anzuführen. Die Krankheit ist seit dem Jahre 1858 bekannt und tritt vorwiegend in den Monaten September und Oktober auf. Auf der oberen und unteren Blattseite, sowie an den Blattstielen befindet sich eine große Menge kleiner, rötlich-brauner, meist rundlicher Pusteln, in deren unmittelbarer Umgebung die Färbung des Blattes einen viel helleren Ton zeigt, als bei normaler Beschaffenheit. Mit der Zeit nehmen die Pusteln allmählich eine dunklere Färbung an und die heller gefärbten Blattteile oder die ganzen Blätter trocknen ein. Die Pusteln sind die Sporen des Pilzes. Dieser entwickelt unter der Oberhaut des Blattes ein Fruchtlager, welches eine große Zahl Hauptträger und an diesen wiederum eine große Anzahl Sporen erzeugt. Die Oberhaut wird durchbrochen und die zur Zeit der Reife sich ablösenden Sporen werden freigelegt. Das die Ernährung des Pilzes besorgende Organ ist sein aus feinen Fäden bestehendes Mycelium, welches in die zwischen den Zellen des Blattgewebes befindlichen Hohlräume eintritt und eigentümliche Saugorgane in die Zellen des Blattgewebes entsendet. Durch seine Wucherungen beeinflußt der Pilz die Blattthätigkeit und hindert die normale Ausbildung der Rübe.

Der Meltauschimmel oder falsche Meltau (Herzblattkrankheit) der Rübe, auch Rübenkräuselkrankheit genannt, wird durch Peronospora Betae, P. Schachtii Fkl. verursacht. Die Krankheit hat ihren Sitz auf den Herzblättern, welche ein blaßgelbes Aussehen annehmen, gekräuselte Oberfläche und nach unten eingeschlagene Blattränder erhalten. Auf der Unterseite der Herzblätter entsteht ein weißer bis blaugrauer Anflug, der aber zuweilen auch ein wachsgelbes bis rosafarbenes Aussehen besitzt. Dieser Anflug ist durch zahllose Frucht- oder Sporenträger des Pilzmyceliums gebildet. Die Entwickelungsgeschichte des Pilzes ist ziemlich kompliziert und leider noch nicht vollkommen bekannt. Nach den Untersuchungen von J. Kühn überwintert das Mycelium des Pilzes am Kopfe der Samenrüben und der Pilz nimmt von dort im kommenden Frühjahre aufs neue seinen Ausgang. Die erkrankten

Blätter bleiben in ihrer Entwickelung zurück, sind am Schlusse mißfarbig und sterben zum Teil ab. Auch die Rübenwurzeln bleiben klein und gehen nicht selten unter Fäulniserscheinungen zu Grunde. Diese Krankheit ist ebenfalls schon längst bekannt, nachdem sie bereits von J. Kühn im Jahre 1854 beobachtet wurde.

Nach der Mitteilung von Hollrung (1) ist sie im vergangenen Jahre in der Provinz Sachsen allgemein aufgetreten, jedoch auch mehrfach in Braunschweig und Hessen beobachtet worden.

Eine sehr verbreitete Krankheit, welche alle Jahre auftritt, ist die Herzfäule. Dieselbe charakterisiert sich in einem Schwarzwerden einzelner Herzblättchen im September, und schon gegen Ende des Monats ist nicht selten die innere Blattrosette vertrocknet. Man hat auch vielfach das Erkranken des Rübenkörpers bei der Herzfäule beobachtet, indem sich nämlich im Fleische des Rübenkörpers an einzelnen Stellen schwammige Flecke bilden, die allmählich in Fäulnis übergehen. Da man nach Sorauer auch derartige, in Fäulnis übergegangene Rüben mit gesunden Blättern findet, so ist es fraglich, ob diese Rübenfäule mit der Blattkrankheit zusammenhängt. Als Erreger der Herzfäule wird Sporidesmium putrefaciens Fuck. angesehen, des ferneren auch Peronospora Schachtii. Nach den Untersuchungen von Frank ist auch ein neu entdeckter Pilz — Phoma Betae — imstande, Herzfäule hervorzurufen. Die Herzfäule ist in den letzten Jahren auch in Frankreich aufgetreten und C. Prillieux hat einen Pilz entdeckt, welcher unmittelbar dem Erscheinen der eigentlichen Herzfäule vorangeht. Dieser Pilz — Phyllosticta tabifica Prill. — erscheint vornehmlich an den Blattstielen, wo er weißliche, ausgebleichte, langgezogene Flecke bildet; seltener kommen diese Flecke auf der Oberseite der Blätter vor. Nach der Ansicht von Vaňha (2) ist dieser Pilz wahrscheinlich identisch mit Phoma Betae. — Eine eigentümliche Krankheit ist die von Hollrung (3) beschriebene „Rübenschwindsucht“. Bei dieser Krankheit werden gewöhnlich im August die ältesten Blätter gelb; im weiteren Verlaufe legen sich dieselben glatt auf den Erdboden nieder und vertrocknen alsbald vollkommen. Im Verlaufe von 3—4 Wochen folgen die nächstältesten Blätter und zuletzt kommen die Herzblätter an die Reihe. Die Krankheit bleibt aber nicht allein auf die Blätter beschränkt, sondern erstreckt sich auch auf die Rübenwurzel, bei welcher nach dem Absterben der Herzblätter eine vollständige Verrottung eintritt. Die vertrockneten Blätter sind zumeist mit einem mehr oder weniger starken Ueberzuge von schwarzgrünen Schimmelpilzen (Septosporium und Cladosporium) bedeckt. Es gelang jedoch niemals, in dem erkrankten Wurzelkörper Spaltpilze oder höher organisierte Pilzparasiten aufzufinden. Nach den Beobachtungen von Hollrung wird die „Rübenschwindsucht“ jedoch von einem tierischen Parasiten verursacht, und zwar von der Rübennematode „Heterodera Schachtii“ und ist als eine lokale, sehr starke Infektion mit dem genannten Schmarotzer aufzufassen. Vaňha (4) fand bei der Untersuchung mit dieser Krankheit behafteter Rüben weder einen parasitischen Pilz noch Heterodera, sondern in großer Menge

andere Würmer. Darunter entdeckte er 3 neue Tylenchusarten, welche er als eigentliche Ursache der Rübenschwindsucht und Rübenfäule ansieht.

Eine bis jetzt seltener aufgetretene Krankheit ist die „Blattfleckenkrankheit der Runkelrübe“, welche durch den von Thümen (5) entdeckten Pilz Cercospora beticola Sacc. hervorgerufen wird. Die Flecken zeigen auf der Oberseite des Blattes ein mattes bräunliches Weißgrau, welche Farbe auf der Unterseite in ein helles Aschgrau übergeht. Die aschgraue Farbe der Flecken rührt von dem einen dichten Ueberzug bildenden Sporen her. Charakteristisch ist es ferner, daß die Flecken auf jeder Seite von einem verhältnismäßig schmalen, olivenbräunlichen oder bräunlichpurpurrotem Rande eingefaßt sind. Eine ganz ähnliche Krankheit wird auch durch Fusarium betae Rabh. verursacht, die jedenfalls mit der vorhergehenden identisch ist. Eine Blattfleckenkrankheit wird auch durch Depazea betaecola DC. hervorgerufen. Die Entwickelungsgeschichte dieses Pilzes, wie übrigens die von Fusarium betae, ist noch nicht genügend klargelegt. Unter dem Namen Depazea faßt man überhaupt nach Frank solche Blattfleckenkrankheiten zusammen, bei denen noch keine Sporen aufgefunden worden sind, somit die Stellung selbst unter den Sphäropsideen zweifelhaft bleibt.

Von ebenso großer Wichtigkeit wie die Krankheiten des Rübenblattes sind die Krankheiten der Rübenwurzel. Während man abe im ersten Falle doch unter Umständen in der Lage ist, durch Ent fernen der erkrankten Teile, resp. der Blätter und durch Bespritzen mit geeigneten Flüssigkeiten die Rübenpflanze noch zu retten, so ist an solche Hilfsmittel bei der Erkrankung der Rübenwurzel nicht zu denken. Wenn die Rübenpflanze infolge günstiger Witterungsverhältnisse nicht selbst in der Lage ist, die Krankheit zu überwinden, so ist sie verloren.

Eine ziemlich häufig auftretende Krankheit ist die Trockenfäule, bei welcher der Rübenkörper vollständig einschrumpft und so hart wird, daß er schwer mit einem Messer zerschnitten werden kann. Hierbei gehen tiefgreifende Veränderungen in der Rübenzelle vor sich. Als Ursache dieser Krankheit sind bis jetzt Pilze noch nicht erkannt worden. Ein rechtzeitig eintretender Regen ist aber imstande, die Pflanzen wieder zu retten.

Die Gummikrankheit der Runkelrüben (bakteriose Gummosis der Zuckerrüben) charakterisiert sich nach Sorauer (6) durch eine vom Wurzelende beginnende Schwarzfärbung, die nach oben hin fortschreitet; in der Kopfregion sind schließlich nur noch die Gefäßbündelkreise als gebräunte Ringe im weißen Fleische bemerkbar. Mit der Verfärbung, die stellenweise von einer klebrigen Ausschwitzung begleitet ist, wird der Rübenkörper welk und längsfaltig. Bei dem Durchschneiden des Rübenkörpers tritt bisweilen aus einzelnen Punkten der gebräunten Gefäßstränge binnen wenigen Minuten ein Gummitropfen heraus. Später zeigten sich auf den stärker erkrankten Teilen an der Oberfläche der unverletzten Rübe reichlich gummiartige Massen als lackfarbige Ueberzüge, auf welchen sich

Mikroorganismen aus den Klassen der Bakterien, Hefen und Mycelpilze vorfanden; schließlich behielt der gemeine Pinselschimmel (Penicillium glaucum) die Oberhand. Diese Krankheit, welche zuerst in Slavonien beobachtet wurde, ist auch in den eigentlichen Rübengegenden Deutschlands aufgetreten. Nach Sorauer hat man es hier mit einer unter Auftreten von Bakterien sich zeigenden Konstitutionskrankheit der Rübe zu thun, welche an eine individuelle oder vielleicht bereits gewissen Rassen und Zuchtstämmen eigene Disposition gebunden ist. Zu gleicher Zeit wie Sorauer hat auch E. Kramer (7), ebenfalls an Rüben aus Slavonien, dieselbe Erscheinung beobachtet und er kam zu dem Resultate, daß diese Krankheit der Rüben durch Bakterien hervorgerufen werde. Krämer nannte diese Krankheit Bakteriosis der Runkelrübe. Jedenfalls sind die Gummikrankheit und die Bakteriosis der Runkelrübe identische Krankheiten. Ref. (8) hat die Gummikrankheit zufällig auch in Oesterreich beobachtet.

Nach den Untersuchungen von Bolley (9) ist der Schorf der Zuckerrüben identisch mit dem Tiefschorf der Kartoffeln. Sorauer (10) fand auf derartig erkrankten Zuckerrüben oberirdisch Sporidesmium putrefaciens. Am Rübenkörper selbst fand sich hochgradig der bakteriose Schorf entwickelt. — Das Faulen älterer Rüben in den Mieten oder selbst im Acker wird durch Leptosphaeria circinans oder durch Sclerotinia Libertiana hervorgerufen.

Eine schon sehr lange bekannte und vielfach verbreitete Krankheit ist der Wurzeltöter der Zuckerrübe. Bei dieser Krankheit bedeckt sich der Rübenkörper mit einem schwarz-violetten, genarbten Ueberzuge, dessen erste Anfänge sich als dunkle, erhabene Pünktchen, welche sich allmählich immer weiter ausbreiten, zeigen. Wo dieser Ueberzug erscheint, färbt sich bald das darunter liegende Zellgewebe der Rübe braun und geht immer in die nasse Fäule über. Eine derartig erkrankte Rübe ist verloren und verfault vollständig. Die Blätter dieser erkrankten Rüben sind zumeist schwarz, doch nicht selten auch noch ganz gesund, selbst bei weit vorgeschrittenem Erkranken der Rübe. Die Krankheit wird hier und da mit dem Namen „Rübenfäule“ bezeichnet und ist in Böhmen unter der Bezeichnung „Roter Schimmel“ schon viele Jahre bekannt. Die Ursache der Krankheit ist der Pilz Rhizoctonia violacea. Von der Species der Rhizoctonia ist es erwiesen, daß diese Pilze besonders krautartige Pflanzen und namentlich mehrere Kulturgewächse angreifen und unter denselben bedeutende Verheerungen anrichten können, weil das Mycelium imstande ist, innerhalb des Bodens von einem Stocke zum anderen wachsen zu können. Nach den bisherigen Forschungen kennt man aber von diesen Pilzen noch immer nicht die vollkommenen Früchte, durch welche die systematische Stellung derselben bestimmt werden könnte. Je nach ihren Nährpflanzen unterscheidet man mehrere Arten dieser Pilze; weiteren Forschungen muß es aber anheimgestellt werden, ob und wie weit diese Pilze zu einer Species gehören. So sind nach den Untersuchungen von J. Kühn (11) der „Wurzeltöter“, Rhizoctonia violacea, und „die Schwärze

oder der Rußtau der Runkelrüben", Helminthosporium rhizoctonon, welche Krankheiten in den meisten Büchern aus einander gehalten werden, identisch.

Ref. (12) hat in einem Falle an Zuckerrüben einen rotbraunen Ueberzug beobachtet, welcher an manchen Exemplaren nur den Schwanz der Rübe und eventuell die kleinen Seitenwurzeln bedeckte und einen Teil des Rumpfes und des Kopfes vollständig frei ließ. Bei anderen Exemplaren hingegen fand sich der Ueberzug vorwiegend nur am Rumpfe vor und ließ die unteren Teile der Rübe mehr oder weniger unbedeckt. Der Ueberzug ließ sich sehr leicht entfernen und konnte unter demselben niemals ein Faulen der Rüben beobachtet werden. Derselbe bestand aus einem Gewebe von septierten, violett gefärbten Myceliumfäden. Während der längeren Untersuchung konnte weder eine Spore noch ein Sporenlager gefunden werden. Die Rüben gingen mit der Zeit in eine Art Verholzung über und war von Fäulnis keine Rede. Ref. war nicht mehr in der Lage, diese merkwürdige Erscheinung an anderen Rüben beobachten zu können und muß dieselbe daher noch weiteren Forschungen anheimgestellt werden.

So ziemlich die größte Verbreitung hat wohl die Wurzelbrandkrankheit der Zuckerrübe gefunden. Der Wurzelbrand ist ebenfalls schon viele Jahre bekannt und darum für den Forscher von großem Interesse, weil bei keiner anderen Rübenkrankheit die Ansichten über die Ursachen so weit aus einander gehen als bei dieser. Die Krankheit äußert sich darin, daß an dem hypokotilen Stammteile oder an der Wurzel der Rübe eine makroskopisch deutlich sichtbare Verletzung erkennbar ist, welche schwärzlich oder gebräunt erscheint und unter dem Mikroskope an dieser Stelle das Parenchymgewebe zerstört oder zersetzt zeigt. Der Wurzelbrand tritt vorzugsweise an jungen Rüben um die Zeit des Verziehens auf; die Wurzelsubstanz schwindet bis auf den mittelsten, Schwarzfärbung annehmenden Gefäßstrang. Letzterer Umstand hat der Krankheit auch den Namen „Schwarze Beine" oder „Zwirn" verschafft. Charakteristisch ist, daß der Wurzelbrand nie oberirdische Pflanzenteile angreift, sondern immer auf die unter der Erdoberfläche sitzenden Partieen beschränkt bleibt. Dem Auge sichtbar wird die Wirkung der Krankheit dadurch, daß die Blättchen gelb werden und die Pflanze zusehends verfällt. Befällt die Krankheit ganz junge Pflanzen, so wirkt sie fast immer tödlich. Die Verbreitungsfähigkeit ist eine ungemein rasche und wenn nicht besonders günstige Umstände eintreten, so können ganze Felder vernichtet werden.

J. Kühn (13) war der Erste, welcher die Krankheit eingehend studierte und zu dem Resultate kam, daß die Ursache in dem Fraße der Larven des Rübenkäferchens Atomaria linearis und der Tausendfüße beruhte. Nachdem auch andere Forscher zu demselben Resultate kamen, so blieb mehr als 20 Jahre die Ansicht geltend, daß der Wurzelbrand nur durch die Angriffe tierischer Schädlinge hervorgerufen werde.

Erst Hellriegel (14) machte 1890 die Beobachtung, daß sich der Wurzelbrand auch dann ausbreitet, wenn Atomaria nicht an-

wesend war, und kam schließlich zum Resultate, daß in gewissen Fällen die Krankheit von den Rübenknäueln ausgehe. Zu einer ganz abweichenden Anschauung gelangte Carlson (15), welcher weder tierische Feinde noch Pilze als Ursache ansieht, sondern vielmehr der Ansicht ist, daß wurzelbrandkranke Rüben weiter nichts als das Produkt einer schwächlichen Rübensaat sind. Auch Wimmer (16) ist der Ansicht, daß der Wurzelbrand durch eine Infektion entstehen kann, welche von den Samen selbst ausgeht. Holdefleiß (17) ist aber dagegen zu dem Resultate gekommen, daß der Wurzelbrand ohne Mitwirkung von Parasiten entstehen kann und daß in den meisten Fällen die Krankheit durch ungünstige chemische oder physikalische Beschaffenheit des Bodens veranlaßt wird. Auch Marek (18) glaubt, daß der Boden unter Umständen zur Bildung von Wurzelbrand beitragen kann, wenn es auch nicht ausgeschlossen ist, daß Pilze dabei mit im Spiele sind. Hollrung (19) ist der Meinung, daß man es in der Provinz Sachsen mit einer Wachstumsstockung der jungen Rüben zu thun hat und liegt die Hauptursache in einem zu kalten Boden, doch ist auch in vielen Fällen die Neigung desselben zum Abbinden und Verkrusten die Ursache.

Zu ganz anderen Ansichten über die Entstehung des Wurzelbrandes kamen die folgenden Forscher. J. Vaňha (20) hat gefunden, daß mikroskopisch kleine Würmer, welche der Gattung Tylenchus angehören, den Wurzelbrand verursachen können. Jensen (21) tritt aber entschieden dafür ein, daß der Urheber der Krankheit ein Schmarotzerpilz ist; ob dieser Pilz Pythium de Baryanum ist, läßt sich noch nicht mit Sicherheit entscheiden. Frank (22) macht gegenüber Jensen aufmerksam, daß zwar Pythium de Baryanum ein häufiger Erreger des Wurzelbrandes ist, daß es aber noch verschiedene andere Pilze giebt, wie z. B. Phoma Betae, welche ebenfalls dasselbe Krankheitsbild hervorrufen.

Zum Schlusse sei noch die Beobachtung Hiltner's (23) hervorgehoben, welcher Forscher die Ursache des Wurzelbrandes in der Anwesenheit von Bakterien sieht. Nach seinen Untersuchungen ist in jeder Oberhautzelle der Wurzel, welche ein verkümmertes Haar trägt, eine ganz bestimmte Bakterienstäbchenart anzutreffen, welcher auch schließlich die Zersetzung der jungen Rübenwurzel zuzuschreiben ist.

Aus dem Vorstehenden ergiebt sich nun, daß die Forschung dem Auftreten des Wurzelbrandes verschiedene Ursachen zuschreibt. Zu diesen Ursachen gehören verschiedene tierische Feinde, das Auftreten von Pilzen und von Bakterien und endlich die chemische und physikalische Beschaffenheit des Bodens. Nachdem nun die Ursachen dieser Krankheit in vieler Beziehung wechselnde sein können, so ist es auch natürlich, daß von einem allgemein sicher wirkenden Bekämpfungsmittel keine Rede sein kann. Eine erfolgreiche Bekämpfung des Wurzelbrandes ist daher nicht immer so einfach gegeben und erfordert auch bei günstigen Umständen viele Arbeit und viele Geldopfer.

Bei der Besprechung über die Herzfäule und den Wurzelbrand haben wir als einen Erreger dieser Krankheiten auch den Pilz

Phoma Betae hervorgehoben. Dieser parasitische Pilz hat seit seiner Entdeckung durch Frank (24) in bedeutendem Maße die Aufmerksamkeit der Wissenschaft und der Praxis erregt. Die Krankheit kann man der äußeren Erscheinung nach als eine Art Herzfäule bezeichnen. Die jüngeren Blätter sind meist schwarz und tot und erstreckt sich die Schwärzung bis auf den Rübenkörper herab. Im Durchschnitte der Rübe ist allerdings nur eine wenige Millimeter dicke Partie der Oberfläche gebräunt; diese Stellen bilden aber den Ausgangspunkt für weiter um sich greifende, mit Fäulniserscheinungen verbundene Zerstörung des Rübenkörpers. Die Pflanze ist in den meisten Fällen verloren oder bleibt zumindestens nur klein und zeigt größere Faulflecken. In den gebräunten Gewebepartieen ist regelmäßig ein parasitischer Pilz zu finden, der ziemlich dicke, mit Querscheidewänden versehene Mycelfäden darstellt, die unter Durchbohrung der Zellmembranen fortwuchern und quer durch den Innenraum, besonders der weiten Parenchymzellen, in geraden oder vielfach gekrümmten Richtungen hindurchwachsen. Frank nannte diesen Pilz, nach eingehendem Studium des anatomischen Baues und der Entwickelungsgeschichte, Phoma Betae. Auch die weiteren Untersuchungen von Frank (25) haben ergeben, daß Phoma Betae ein wirklich neuer, vorher noch nicht beobachteter Pilz ist und insbesondere mit dem allgemein verbreiteten Sporidesmium oder Cladosporium putrefaciens nichts zu thun hat. Krüger (26) hat den Pilz ebenfalls einer eingehenden mikroskopischen Prüfung unterzogen und den Nachweis erbracht, daß derselbe sowohl den Wurzelbrand als auch die Herzfäule verursachen kann. Da Phoma Betae sich bereits in Deutschland in außerordentlicher Weise verbreitet hat, so haben sich verschiedene Forscher mit diesem Pilze beschäftigt und Maßregeln zur Bekämpfung desselben angegeben und seien außer den vorgenannten beiden Forschern diesbezüglich Hollrung, Sorauer, Holdefleiß und Eidam genannt. Der Pilz wurde auch schon in Oesterreich (27) und zwar in Mähren und Schlesien vorgefunden. Wenn auch Phoma Betae in günstigen Jahren viel von seinem gefährlichen Charakter verlieren dürfte, so ist er doch keineswegs von der leichten Seite zu nehmen. Gerade unsere vielfachen Unkenntnisse über die Bekämpfung erhöhen seine Gefährlichkeit.

Wien, April 1895.

Litteratur.

1) Die deutsche Zuckerindustrie. 1894. p. 906.
2) Zeitschr. f. Zuckerindustrie in Böhmen. 1894. p. 617.
3) 3. Jahresbericht der Versuchsstation für Nematodenvertilgung und Pflanzenschutz in Halle a. S. 1891.
4) Zeitschr. f. Zuckerindustrie in Böhmen. 1894. p. 617.
5) Wiener Landwirtschaftliche Zeitung. 1878. p. 503. „Die Blattfleckenkrankheit der Zuckerrübe". Verlag der k. k. Versuchsstation Klosterneuburg. 1882. No. 4.
6) Zeitschrift f. Pflanzenkrankheiten. 1892. p. 280. — Blätter für Zuckerrübenbau. 1894. p. 9.
7) Oesterr. landw. Centralblatt. 1891. p. 30.
8) Oesterr.-ungarische Zeitschrift für Zuckerindustrie und Landwirtschaft. 1892. p. 921.

9) Government agricultural Experiment Station for North Dacota. Bull. No. 4. 1891.
10) Jahresbericht des von der Deutschen landwirtschaftl. Gesellschaft errichteten Sonderausschusses für Pflanzenschutz. 1893.
11) Berichte aus dem physiologischen Laboratorium und der Versuchsanstalt des landwirtschaftl. Institutes der Universität Halle. 1881. Heft 3.
12) Oesterr. - ungarische Zeitschrift für Zuckerindustrie und Landwirtschaft. 1892. p. 924.
13) Die Krankheiten der Kulturgewächse, ihre Ursachen und ihre Verbreitung. J. Kühn. 2. Auflage. 1859.
14) Die deutsche Zuckerindustrie. 1890. p. 745.
15) Zeitschrift des Vereins für die Rübenzuckerindustrie des Deutschen Reiches. 1891. p. 371.
16) Ibid. 1892. p. 309.
17) Der Landwirt. 1892. p. 215.
18) Der Landwirt. 1892. p. 1.
19) 4. Jahresbericht der Versuchsstation für Nematodenvertilgung und Pflanzenschutz in Halle a. S. 1892.
20) Zeitschr. f. Zuckerindustrie in Böhmen. 1894. p. 617.
21) Blätter für Zuckerrübenbau. 1894. p. 454.
22) Zeitschr. des Vereins für die Rübenzuckerindustrie des Deutschen Reiches. 1894. p. 1019.
23) Neue Zeitschr. f. Rübenzuckerindustrie. 1894. p. 117.
24) Zeitschrift des Vereins für die Rübenzuckerindustrie des Deutschen Reiches. 1892. p. 904.
25) Ibid. 1894. p. 158.
26) Ibid. 1893. p. 90 u. 730.
27) Wochenschrift des Centralvereins für Rübenzuckerindustrie in der österr.-ung. Monarchie. 1894. p. 817.

Weitere Bücher, Zeitschriften und Berichte:

P. Sorauer, Handbuch der Pflanzenkrankheiten. 2. Aufl. 1886.
J. Kühn, Die Krankheiten der Kulturgewächse, ihre Ursachen und ihre Verbreitung. 2. Aufl. 1859.
H. Werner, Der praktische Zuckerrübenbau. 1888.
Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten. Herausgegeben von P. Sorauer.
Jahresberichte der Versuchsstation für Nematodenvertilgung und Pflanzenschutz in Halle a. S. Bd. I—V.

Referate.

Ferrier, Considérations générales sur le pléomorphisme des cils vibratiles de quelques bactéries mobiles. (Archives de médecine expérimentale et d'anatomie pathologique. Série I. T. VII. 1895.)

Verf. hat die Geißeln im allgemeinen nach der Methode von Loeffler gefärbt; er hält es für ratsam, die Präparate nach dem Beizen zuerst mit Wasser, dann mit 95-proz. Alkohol auszuwaschen und sie mit Anilinwasserfuchsin zu färben, ohne sie zu erwärmen. Verf. hat die Geißeln bei einigen Arten untersucht und konstatiert, daß dieselben als morphologisches Unterscheidungsmittel nicht dienen können, da die Zahl, Länge und Gestalt der Geißeln bei gleichen Arten variabel ist. So besitzt Coli commune 2—3, manchmal auch 5—6 oder sogar 10 Geißeln. Die Zahl und Entwickelung der Geißeln steht in direkter Beziehung zu der Temperatur, in welcher die Kulturen sich befanden; bei einer Kultur von Coli commune,

die bei 46° gewachsen, entwickeln sich z. B. gar keine Geißeln. Das Alter der Kultur hat auf das Auftreten der Geißeln nach den Angaben von Ferrier keinen Einfluß, so konnte er noch bei 28 Tage alten Kulturen die Geißeln genau so deutlich sehen (er empfiehlt die Kultur mit Gummikappen zu bedecken).

So wie die allzu hohe Temperatur, wirken auch die antiseptischen Mittel hemmend auf die Entwickelung der Geißeln. Verf. will ferner nach den nur bei einem Bacillus (cocco bacille de la pneumo-entérite infectieuse) gewonnenen Resultaten a priori schließen dürfen, daß bei virulenten Kulturen die Beweglichkeit und somit die Entwickelung der Geißeln abnimmt, welcher Schluß d. Ref. allerdings etwas gewagt erscheint.

Bei einigen der untersuchten Arten (Coli commune, Bac. subtilis) hat Verf. um die Bakterien herum einen hellen Hof gesehen, von welchem die Geißeln ausgingen. Dieser Hof färbte sich ganz wie die Geißeln und scheint dieselbe chemische Zusammensetzung zu haben. Das Protoplasma, welches die Bakterien umgiebt und von welchem auch die Geißeln ausgehen, bildet den zartesten Teil des Bakterienkörpers und verursacht so die starke Empfindlichkeit desselben gegen Temperatur sowohl, als auch gegen Desinfektionsmittel. Rabinowitsch (Berlin).

Mendelssohn, M., Ueber den Thermotropismus einzelliger Organismen. (Arch. f. d. gesamte Physiol. von E. F. Pflüger. Bd. LX. Heft 1. p. 1.)

Die Untersuchungen des Verf.'s sind an Infusorien angestellt worden, doch läßt sich annehmen, daß die hierbei gewonnenen Resultate auch auf den Pflanzen zugezählte einzellige Organismen mit spontanem Bewegungsvermögen übertragen werden können. Anknüpfend an die Untersuchungen von M. Verworn über die Wirkung der richtenden Kräfte bei den Bewegungen niederer Organismen stellte sich der Verf. die Aufgabe, die von der Wärme ausgehende richtende Kraft festzustellen. Innerhalb der Versuchstemperaturen wurde bei Myxomyceten positiver, bei Amöben negativer Thermotropismus nachgewiesen.

Objekte für die Beobachtungen des Verf.'s waren Paramäcien (P. Aurelia), zum kleinen Teile Euglena viridis. Dieselben befanden sich in einem flachen Ebonitkasten, in welchem sich die Ortsveränderungen der Schwärme von Infusorien gut beobachten ließen.

Der Kasten war in eine Messingplatte eingesenkt, welche auf ihrer unteren Fläche mit mehreren (meist 2), in gewissen Abständen von einander befestigten Heizröhren versehen war. Wurde z. B. durch ein Rohr heißes, durch das andere kaltes Wasser geleitet, so ließ sich dadurch eine erhebliche Temperaturdifferenz an beiden Enden des Kastens herstellen. War die Temperatur in dem Kasten überall gleich, so breiteten sich die Infusorien durch die ganze Wassermasse hindurch gleichmäßig aus; waren die Temperaturen an beiden Enden des Kastens verschieden, so drängten sich die Infusorien an den Stellen, wo ein Optimum der Temperatur bestand, zusammen. Die Temperaturen an beiden Enden des Kastens wurden nun mehrfach

variiert, dann die jeweilige Temperatur am Orte der Infusoriensammlung festgestellt.

Aus den Beobachtungen lassen sich folgende Schlüsse ziehen: 1) Innerhalb gewisser (höherer) Temperaturen (oberhalb 25° C) sind die Infusorien negativ thermotropisch, bei niederen positiv thermotropisch. Sind sie extremen Temperaturen ausgesetzt, so sammeln sie sich an der Stelle eines Temperaturoptimums. 2) Dieses Verhalten der Infusorien wird modifiziert durch ihre Fähigkeit der Anpassung an verschiedene Temperaturen. Diese äußert sich in einer Verschiebung des Temperaturoptimums, namentlich nach oben hin. Von Einfluß auf die Bewegung des Optimums ist dabei die Geschwindigkeit der Temperaturveränderung (hieraus ergiebt sich in Bezug auf die Versuchsanstellung die Forderung, die Temperatur bei allen Versuchen mit gleicher Geschwindigkeit sich ändern zu lassen). 3) Das Zustandekommen der thermotropischen Erscheinungen ist bedingt durch das Vorhandensein einer für die Infusorien empfindlichen Temperaturdifferenz an ihren beiden Körperpolen. 4) Die Schnelligkeit der Bewegungen der Infusorien steigt mit der Temperatur.

Wirkungen des Heliotropismus, Geotropismus, Chemotropismus waren bei der Versuchsanstellung ausgeschlossen.

Aus den gewonnenen Beobachtungen läßt sich schließen, daß die Bewegungsrichtungen der einzelligen Organismen durch Reizdifferenzen herbeigeführt werden. An der großen thermotropischen Reaktionsfähigkeit des Protoplasmas läßt sich aber eine sehr feine Unterschiedsempfindlichkeit (bereits bei einer Temperaturdifferenz von 0,01° C an beiden Körperpolen des Paramäciums eintretend) des Protoplasmas erkennen. Die Frage, ob die Kälte ebenso wie die Wärme als Reiz wirke und Erregung erzeugen könne, schwebt noch; der Verf. neigt zu der Annahme, daß Kälte eine lähmende Wirkung ausübe.

Scherpe (Berlin).

Cramer, E., Die Zusammensetzung der Sporen von Penicillium glaucum und ihre Beziehung zu der Widerstandsfähigkeit derselben gegen äußere Einflüsse. (Arch. f. Hyg. Bd. XX. 1894. p. 197—205.)

Frühere Untersuchungen des Verf.'s hatten ergeben, daß die Penicilliumsporen einen sehr hohen Gehalt an Trockensubstanz besitzen und daß sie in trockener Luft ihr sämtliches Wasser abgeben, um es in feuchter wieder aufzunehmen.

Die neueren vom Verf. ausgeführten Analysen der Penicilliumsporen ergaben für Trockensubstanz folgende Zusammensetzung:

	Im Mittel:
N-Substanz (= Eiweiß)	28,44 Proz.
Aether. Extrakt	7,34 „
Alkohol. „	30,46 „
Stärke	17,00 „
Cellulose	11,13 „
Asche	1,91 „
Unbestimmbarer Rest	3,72 „
	100,00 Proz.

Als „Stärke" sind die durch verdünnte H_2SO_4 invertierbaren Kohlenhydrate berechnet, deren Natur Verf. noch nicht ermittelt hat. Das alkoholische Extrakt ist stark hygroskopisch.

Auf Grund der neuen Untersuchungen erweitert Verf. seine früher ausgesprochenen Ansichten über die Natur der Penilliumsporen dahin, daß er annimmt, ein Kern von konzentrischem Eiweiß sei von einem Mantel aus Cellulose und stärkeähnlichen Kohlenhydraten, durchtränkt mit fettartigen und in Alkohol löslichen, sehr hygroskopischen Körpern, umgeben. Die große Resistenz der Sporen gegen trockene Hitze führt Verf. auf ihre stark hygroskopischen Eigenschaften zurück. Die relative Widerstandsfähigkeit gegen feuchte Hitze läßt sich nach Verf. in der Weise erklären, daß das Wasser in erster Linie von den hygroskopischen, alkohollöslichen Substanzen absorbiert wird und erst später, wenn diese übersättigt sind, an das Eiweiß geht; dadurch bleibt das Eiweiß relativ lange vor Koagulation bewahrt.

Auch durch die schwierige Benetzbarkeit werden die Sporen gegen zu schnelle Einwirkung der Feuchtigkeit geschützt.

Busse (Berlin).

Winterstein, E., Ueber die Spaltungsprodukte der Pilzcellulose. (Ber. d. Deutsch. Chem. Ges. 1894. No. 28. p. 167.)

Aus Boletus edulis, Agaricus campestris, Morchella esculenta, Botrytis cinerea und Polyporus officinalis stellte der Verf. nach den Methoden von Fr. Schulze und W. Hoffmeister Pilzcellulosepräparate dar, welche beim Erhitzen mit Salzsäure salzsaures Glukosamin und Essigsäure lieferten. Diese beiden Verbindungen entstehen aber ebenfalls neben einander beim Erhitzen des Chitins mit Salzsäure.

Das Chitin wird nach Ledderhose[1]) beim Schmelzen mit Kalihydrat völlig zerstört, die Pilzcellulose dagegen nicht. Steigert man jedoch die Temperatur beim Schmelzen des Chitins mit Kalihydrat nicht über ungefähr 180°, so bleibt das Chitin in seiner Struktur erhalten, wird aber dabei in Chitosan, welches sich in sehr verdünnten Säuren löst, und Essigsäure gespalten. Ebenso verhalten sich aber auch die Membranen der Pilze. Hiernach kann man annehmen, daß letztere einen Körper einschließen, welcher mit Chitin entweder identisch ist oder demselben doch sehr nahe steht.

Die Polyporusarten weichen hinsichtlich der bei der Kalischmelze sich bildenden Produkte von den Agaricinen insofern ab, als der nach Behandlung des Reaktionsproduktes mit Wasser bleibende Rückstand nur teilweise in sehr verdünnter Salzsäure löslich ist. Das Ungelöste kann man, da es bei der Hydrolyse Traubenzucker liefert, vielleicht als ein Anhydrid dieser Glukose und als eine der gewöhnlichen Cellulose verwandte Substanz betrachten. Der in sehr verdünnter Salzsäure lösliche Teil jenes Rückstandes zeigt gleiches Verhalten wie Chitosan.

Da aber Traubenzucker auch bei der Hydrolyse der aus Bole-

1) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. IV. p. 139.

tus edulis und Agaricus campestris dargestellten Pilzcellulosen entsteht, so kann man hieraus folgern, daß letztere nicht etwa nur aus Chitin bestanden haben können. Für letztere Annahme spricht auch der Umstand, daß der Stickstoffgehalt derselben vom Verf. stets niedriger gefunden wurde, als derjenige des Chitins. Würden diese Präparate aber neben Chitin einen mit der gewöhnlichen Cellulose übereinstimmenden oder der letzteren nahestehenden Körper einschließen, so müßte derselbe bei der Kalischmelze in derselben Weise gefunden worden sein, wie es bei den Polyporeen der Fall war.

Man kann annehmen, daß der in Traubenzucker überführbare Bestandteil bei der Kalischmelze zerstört wird; vielleicht gehört er zu den Hemicellulosen. Hollborn (Rostock).

Went, F. A. und Prinsen Geerligs, H. C., Beobachtungen über die Hefearten und zuckerbildenden Pilze der Arrakfabrikation. (Verhandeling. d. koninkl. Akad. v. Wetenschappen te Amsterdam. Ser. II. Teil 4. No. 2. Mit 4 Taf.), auch S.-A. 31 p. Amsterdam 1895. — Soweit die Resultate für die Praxis von Bedeutung, auch mitgeteilt in: Over suiker- en alcoholvorming door organismen in verband met de verwerking der naproducten in de rietsuikerfabrieken. (Archief voor de Java-suikerindustrie. Jahrg. 1894. Soerabaja 1894.)

Zur Arrakgewinnung benutzt man auf Java neben der Melasse der Rohrzuckerfabriken den Reis, und zwar meistens den sogenannten Klebreis (Kētan) Oryza glutinosa. Feinere Arrakarten werden ausschließlich aus Reis dargestellt, doch sind die näheren Einzelheiten nicht an allen Orten Javas die gleichen, so z. B. in Batavia anders als in Tegal. Ein wichtiger Hilfsstoff der Arrakfabrikation ist der sog. Ragi, und dieser ist es, welcher die Verff. der vorliegenden Arbeit nach verschiedenen Seiten hin beschäftigt.

Der Ragi — es sind das im wesentlichen aus Reisstärke und beigemengten Organismen bestehende, einige cm im Durchmesser haltende Kugeln — ähnelt also dem von Calmette als „Chinesische Hefe“ bezeichneten Materiale, welch letztere in Cochin-China gleichfalls zur Darstellung alkoholischer Getränke Verwendung findet. Er besitzt die Eigenschaft, stärkehaltige Produkte und besonders auch Reis zu verzuckern und gleichzeitig diesen Zucker zu Alkohol zu vergären. Das Wesentliche seiner Zusammensetzung sind somit Diastase- und Alkohol-bildende Organismen, welche von den Verff. isoliert und genauer studiert wurden. Der Beschreibung dieser senden dieselben noch einige Bemerkungen allgemeiner Art vorauf, die sich auf die Verwendung des Ragi zur Bereitung zweier Genußmittel („Tapej“ und „Brĕm“) beziehen, welche im wesentlichen aus verzuckertem (schwach säuerlich schmeckendem) Reis bestehen und in gewisser Beziehung wohl mit dem von Kellner[1]) beschriebenen „Miso“ der Japaner verglichen werden können, im übrigen aber auch mit dem „Koji“ schon eine gewisse Aehnlichkeit haben.

---

1) Chemiker-Ztg. 1895. 1. Quartal.

Der von den Organismen des Ragi gebildete Zucker ist Dextrose (neben geringeren Dextrinmengen), wie Polarisation und Krystallaussehen ergaben. Die mikroskopische Untersuchung jener zeigte das Vorhandensein von Bakterien, Hefezellen und Fragmenten eines Fadenpilzes; von diesen sind die ersteren bedeutungslos, bei größerer Menge für die Gärung sogar nachteilig, die zweiten sind die ausschließlichen Alkoholbildner und die letzten die Zuckerbildner. Bei der Herstellung des Ragi ist das Reismehl die Hauptsache (einige andere noch verwendete Ingredienzien spielen keine wesentliche Rolle), wie Versuche der Darstellung aus diesem und zuckerhaltigem Wasser ergaben; der zu Kugeln gekochte Brei wird an der Sonne zwischen Reisstroh getrocknet, denn dies ist der Ort des Vorkommens der Ragi-Organismen. Ebenso finden sich bekanntlich auch die Organismen der „levure chinoise" auf der Reispflanze (Calmette). In dem so erzeugten Ragi fanden die Verff. dann noch einen zweiten zuckerbildenden Pilz.

Die Hefezellen des Ragi gehören in der Hauptsache zwei verschiedenen Arten an, von denen die eine, in Reinkulturen isolierte, einen sehr wertvollen Arrak lieferte und auch in Batavia Ursache der Gärung zu sein scheint. Die andere von den Verff. als Monilia javanica bezeichnete überwiegt numerisch allerdings sehr erheblich. Bezüglich der Beschreibung der von den Verff. in Reinkulturen (auf Flüssigkeiten, Agarplatten, Reis) gezogenen Organismen muß auf die ausführlichen Darlegungen des Originals verwiesen werden, wir können hier nur einen kurzen Ueberblick geben.

1) Monilia javanica nov. spec. Der Pilz bildet unter gewissen Verhältnissen dichte Fadenmassen und es liegt vielleicht der sterile Zustand irgend eines höheren Pilzes vor. Endogene Sporenbildung konnte in den Hefezellen nicht erzielt werden. Dextrose, Laevulose, Maltose, Raffinose, Saccharose (nach Inversion) werden leicht vergoren, Laktose dagegen nicht. Grenze für Wachstum und Gärung liegt bei 5 Proz. Alkohol. Eine Wasserstoffatmosphäre schließt beides fast ganz aus, reduziert es jedenfalls außerordentlich. Der gebildete abdestillierte Alkohol hatte keinen sehr angenehmen Geruch und Geschmack, was die minder gute Qualität des durch ihn erzeugten Arraks (außerhalb Batavias) erklärt.

2) Saccharomyces Vordermanni nov. spec. Die Art bewirkt starke Gärung ohne spätere Hautbildung. Sporen bilden sich auf Gipsblöcken meist in der Vierzahl. Wachstum und Gärung finden auch in einer Wasserstoffatmosphäre statt. Als Stickstoffnahrung ist auch hier Pepton am besten. Vergoren werden auch von dieser die obengenannten Zuckerarten, entsprechendenfalls nach vorheriger Inversion. 9—10 Proz. Alkohol setzen der Gärung eine Grenze. Wie oben entstanden als Nebenprodukte Glycerin und Bernsteinsäure. Der abdestillierte Arrak besaß einen sehr feinen Geruch und Geschmack, er enthielt etwas Aldehyd und Aethylacetat, keine freie Säure und ebensowenig höhere Alkohole. Die Art ist nach den Verff. also für die Praxis von Bedeutung, da der gewöhnliche Arrak des Handels immer etwas fuselhaltig ist; dabei vollzieht sich

die Gärung rasch, so daß in 3—4 Tagen ungefähr 18—19 Proz. Zucker vergoren werden (25—30° C).

3) Chlamydomucor Oryzae nov. spec. Die im Ragi sich findenden stark lichtbrechenden Kugeln (Gemmen) keimen leicht und liefern ein weißes Mycelium von 15—25 μ Fadendicke mit Rhizoidähnlichen Seitenzweigen, doch ohne Querwände. Außer derbwandigen Chlamydosporen wurde an Fortpflanzungsorganen nichts gefunden, wennschon gelegentliche Versuche zur Sporangiumbildung vorkommen. Trotz einiger Aehnlichkeit scheint der Pilz mit dem Amylomyces Rouxii von Calmette — dessen Namen die Verff. wohl mit Recht beanstanden und der auch von Eijkmann bereits als ein Mucor erkannt wurde — nicht identisch zu sein. Der Pilz führt Stärke in Dextrose über, ist aber kein Alkoholbildner. Möglicherweise ist er jedoch identisch mit der hier zu nennenden 4. Species:

4) Rhizopus Oryzae nov. spec. Sporangien braunschwarz mit birnförmiger Columella und öfterem Kragenreste nach Zerfließen der Wand, die meist mit kleinen Oxalatkrystallen besetzt ist. Uebrigens von sehr verschiedener Größe, normalerweise ca. 175 × 167 μ. Columella 120 × 100 μ, Sporen (schwach eckig, hellgrau) bis zu 7 × 5 μ. Zygosporenbildung hervorzurufen gelang nicht, auch Hefebildung fand nicht statt, solche von Gemmen jedoch reichlich. Die Ausläufer bilden in bekannter Weise Rhizoiden und Sporangienträger wechselnder Zahl. Eigentümliche kranzförmige Verzweigungen findet man an dem Luftmycel, die im Originale näher beschrieben und abgebildet sind. Der Pilz nimmt nach allem eine mittlere Stellung zwischen den Gattungen Mucor und Rhizopus ein, wird aber wohl am besten der letzteren eingereiht. Die Frage nach der etwaigen Zusammengehörigkeit mit Chlamydomucor Oryzae lassen Verff., wie bereits bemerkt, offen. Auch er bildet aus Reisstärke Dextrose.

Die zwei Schlußkapitel der Arbeit beschäftigen sich alsdann noch etwas näher mit den physiologischen Eigenschaften der beiden letztgenannten Pilze. Es wird da zunächst der Wert verschiedener Arten von Stickstoff- und Kohlenstoff-liefernden Substanzen verglichen (Pepton, Asparagin, Harnstoff, Ammonsulfat, salpetersaures und salpetrigsaures Kali, Dextrose, Essigsäure, Alkhohol, Saccharose, Citronensäure, Weinsäure, Benzoësäure). Alkoholbildung in Dextroselösung fand nicht statt, Milch wurde von beiden unter Säurebildung koaguliert. In Wasserstoff fand nur sehr geringes Wachstum statt. Gegenüber Kartoffeln und gewöhnlichem Reis (nicht Klebreis) ist das Verzuckerungsvermögen gering, wogegen Dextrin, Amylodextrin und andere Zwischensubstanzen zwischen Stärke und Zucker ergiebig verzuckert werden. Klebreis enthält bekanntlich eine Stärkeart, die sich mit Jod nicht blau, sondern rotbraun färbt, und die beiden Pilze können offenbar die eigentliche Granulose nicht in Zucker umbilden. Im übrigen ist das Verzuckerungsvermögen nicht ganz gleich, doch sei bezüglich dieser durch Zahlen genauer belegten Versuche und einiger weiterer Erörterungen auf die Arbeit selbst verwiesen. Das in Betracht kommende Ferment ist durch Glycerin extrahierbar.

Die morphologischen Besonderheiten der besprochenen Pilze werden durch vier sorgfältig ausgeführte Tafeln erläutert.

Wehmer (Hannover).

Went, F. A. C. en Prinsen-Geerligs, H. C., Over suiker en alcoholvorming door organismen in verband met de verwerking der naproducten in de rietsuikerfabriken. (Medeelingen van het proefstation voor suikerriet in West-Java te Kagok-Tegal. 1895.)

Bei Beantwortung der Frage, wie die Rückstände der Rohrzuckerfabriken am besten zu verwerten sind, steht die Verwendung zur Arrakbereitung im Vordergrunde des Interesses. Als Gärungserreger wird in den javanischen Arrakfabriken das sog. „raggi" gebraucht. Dieses besteht aus flachen, runden Kuchen, die aus Teilen von Zuckerrohr und Reismehl unter Zusatz einiger anderer Pflanzenstoffe geknetet werden, nachdem die Masse vorher eine Art Gärung durchgemacht hat. Außer in den Arrakfabriken wird das „raggi" von den Eingeborenen unter Zufügen von Reismehl zur Darstellung eines süßsaueren, alkoholhaltigen Produktes („tapej"), sowie eines malzzuckerartigen Stoffes („brem") verwendet. Diese verschiedenartige Wirkungsweise des „raggi" ließ mehrere Organismen vermuten und in der That fanden sich denn auch außer Bakterien noch Schimmelpilze, Hefezellen und große, stark lichtbrechende, kugelige Sporen. Die Bakterien waren stets in geringer Zahl vorhanden und es ergab sich bald, daß sie zu der Gärung in keiner Beziehung standen. Aus den erwähnten Sporen ließ sich leicht ein Schimmelpilz ziehen, dessen Merkmale ihn zur Gattung Chlamydomucor wiesen. Verff. nennen ihn Chl. oryzae. Der Pilz zeigte die Fähigkeit, die Stärkekörner des gekochten Klebreises, welche nach den Untersuchungen von Dafert, A. Mayer und Shimoyama aus Amylodextrin bestehen, in Dextrose umzuwandeln. Andere Stärkesorten, von denen namentlich solche untersucht wurden, welche mit Jod eine mehr oder weniger rötliche Färbung geben, wurden von dem Pilze in verschiedenem Maße in Dextrose übergeführt, und zwar war die Ausbeute um so größer, je stärker die Jodfärbung ins Rötliche spielte. Chl. oryzae scheint als quantitatives Reagens auf Amylodextrin dienen zu können. Ferner wurden verschiedene Kohlenstoff- und Stickstoffquellen auf ihre Nährkraft für den Pilz geprüft und ergaben Pepton und Dextrose, andererseits Pepton und Asparagin die besten Ergebnisse. Bei Sauerstoffmangel erfolgte keine Entwickelung. Die Umwandlung des Amylodextrins läßt sich experimentell auf ein durch den Pilz erzeugtes Enzym zurückführen, welches jedoch nicht in die Umgebung diffundiert, sondern sich innerhalb der Hyphen vorfindet.

Das einzellige Mycel kriecht auf dem Substrate und treibt auch Fäden in die Luft. Diese sind schneeweiß und können mehrere cm lang werden; auf der Unterlage bilden sie kurze, verzweigte Haftorgane. Konidienträger und Konidien ließen sich trotz aller Mühe nicht erziehen; als einzige Fortpflanzungsorgane bildeten sich Gemmen oder Chlamydosporen von den verschiedensten Formen. Sie enthalten große Mengen Glykogen und finden sich sehr zahlreich im „raggi".

Der so beschriebene Chl. oryzae zeigte sehr große Aehnlichkeit mit einer anderen Mucorinee, welche von den Verff. gleichfalls untersucht wurde. In physiologischer Hinsicht zeigte sich dieser zweite Pilz nur dadurch verschieden, daß die aus Amylodextrin erzeugte Dextrosemenge geringer war. Morphologische Unterschiede bestanden in der Konidienbildung des letzteren Pilzes. Die Konidien waren rotschwarz und bildeten die Endglieder von kranzartigen Verzweigungen. Verff. glauben, daß infolge der Sporenbildung ein stärkerer Verbrauch der gebildeten Dextrose eintrete und damit die geringere Produktion dieses Stoffes sich erklären lasse. Untergetaucht lebend bringt der Pilz nur Gemmen hervor.

Außer den erwähnten Pilzformen fanden sich im „raggi“ zwei Heferassen, welche nach Hansen'scher Methode in Reinkulturen beobachtet wurden. Hefe No. I bildete auf zuckerhaltigen Flüssigkeiten ein kahmartiges Häutchen. Die anfangs gleichmäßige Decke wurde später runzelig, gleichzeitig senkten sich Zellen zu Boden und die nun beginnende Kohlensäureentwickelung brachte das Häutchen bald zum Schwinden. Auf festem Nährboden entstand anfangs auch ein Häutchen, das nach einiger Zeit sich runzelte. In einem späteren Stadium entstanden vom Rande aus Fransen, welche aus in radialer Richtung verlaufenden Pilzhyphen gebildet wurden. Unter dem Mikroskope ließ sich erkennen, daß diese Hyphen aus den hefeartigen Zellen ihren Ursprung nahmen und zuweilen auch allmählich wieder in solche endeten. Endogene Sporenbildung ließ sich nicht erreichen. Verff. rechnen den Pilz zur Gattung Monilia und benennen ihn M. javanica. Weitere Untersuchungen erwiesen, daß er imstande war, Maltose, Raffinose, Laevulose, Dextrose und Saccharose zu vergären, letztere, nachdem er sie zuvor invertiert hatte. Doch war die Gärkraft nicht groß, es wurden nur 9—9 $^{1}/_{2}$ Proz. Glykose gespalten. Der abdestillierte Alkohol war von unangenehmem Geruche und Geschmacke.

Hefe No. II trat im „raggi“ der Moniliahefe gegenüber an Menge ganz erheblich zurück. Impft man indessen von einer durch „raggi“ in Gärung versetzten Zuckerlösung mehrere Male hintereinander in frische sterile Zuckerlösungen über, so gewinnt Hefe No. II die Oberhand. Das Gärungsbild ist ein ganz anderes als bei Monilia, es ist dem der Weinhefe völlig gleich. Impft man die Hefe auf Agar, so entstehen dicke, weiße, schleimige Massen, die, scharf umrandet, keinerlei Fransen erkennen lassen. Dem bewaffneten Auge erscheinen die Zellen rundlich birn- oder zwiebelförmig und meist nicht zusammenhängend. Zuweilen finden sich eckige Zellen und im Schaume langgestreckte Formen. Auf Gipsblöcken kultiviert, bildeten sie je 4 Sporen, ließen sich also als echte Saccharomyceten feststellen. Verff. benennen sie Saccharomyces Vordermannii. Ueber die Lebensbedingungen wurde noch ermittelt, daß Pepton, Ammoniaksalze, Asparagin und Harnstoff gute Stickstoffquellen boten. Dextrose, Laevulose, Maltose, Raffinose und Saccharose ließen sich vergären, letztere jedoch nicht direkt. Die Menge der vergorenen Glykose belief sich auf 18—19 Proz. Sauerstoffabwesenheit vermochte die Gärung wohl zu verlangsamen, aber nicht zu verhindern, wie es

bei der Monilia der Fall war. Als Nebenprodukte der Gärung ließen sich Glycerin und Bernsteinsäure nachweisen, ferner fanden sich in dem alkoholischen Destillate 0,113 Proz. Aethylacetat und etwas Aldehyd, dagegen fehlten Methyl- und Amylalkohol, sowie freie Säure gänzlich. Das Destillat besaß einen sehr angenehmen Geruch und Geschmack und war erheblich besser als der Arrak des Handels, welcher immer Amylalkohol enthält.

Es folgen dann einige Vorschläge für die Praxis. Dem Texte sind 13 Figuren der Pilze beigefügt.

Albert (Geisenheim a. Rh.).

Marchal, Emile, Contribution à l'étude microbiologique de la maturation des fromages mous. (Annales de la Société belge de microscopie. T. XIX. 1895.)

Verf. hat zwei Arten Weichkäse, die in Belgien sehr viel fabriziert werden, bakteriologisch untersucht und die physiologischen Funktionen der in denselben vertretenen Mikroorganismen zum Gegenstande eines näheren Studiums gemacht.

Die beiden untersuchten Weichkäsearten sind der „fromage de Herve“ oder Limburgerkäse und der „Cassette“, auch „Crasstoffé“ oder „Fort fromage“ genannte Käse.

In letzterem Käse fand Verf. hauptsächlich Oospora lactis (Oïdium lactis), und außerdem zwei besonders auf der Oberfläche wachsende Oosporaarten, nämlich Oospora crustacea und eine andere chokoladenfarbige Oosporaart. Aus seinen Untersuchungen über Oospora lactis zieht Verf. den Schluß, daß dieser Mikroorganismus bei der Reifung der Weichkäse eine Hauptrolle spiele. Namentlich werde das Kaseïn von demselben angegriffen und in lösliche Form übergeführt, wie Referent in Gemeinschaft mit Dr. Lang nachgewiesen hat (Landw. Jahrbuch der Schweiz. 1893. p. 229 und Annales de Micrographie. Bd. VI. p. 68).

Der Herstellungsmodus dieser Käseart soll nach Verf. das Wachstum des Oïdiumpilzes begünstigen, dagegen der Entwickelung anderer Bakterienarten hinderlich sein.

Im Hervekäse begegnete Verf. einer reicheren Bakterienflora. In demselben waren vertreten:

1) Ein verflüssigender Bacillus (Bac. α).
2) Ein nicht verflüssigender Bacillus (Bac. β).
3) Eine Hefe.
4) Oospora lactis.

Bac. β ist ein Milchsäureferment. Die Hefe übt auf die Bestandteile der Milch nur eine schwache Wirkung aus. Der Bac. α dagegen, den Verf. unter die Tyrothrixarten von Duclaux einreiht, zersetzt das Kaseïn ganz namhaft. Unter Bildung von Ammoniak und Fettsäuren führt er fast alles unlösliche Kaseïn in lösliche Form über und wird daher vom Verf. als einen der Hauptfaktoren bei der Reifung des Käses angesehen.

Bis auf das Vorkommen dieses verflüssigenden Bacillus stimmt das Resultat der Analysen des Verf.'s ganz überein mit den Resultaten, die Referent bei der Untersuchung ähnlicher Weichkäse er-

halten hat (vgl. diesen Band p. 168). Das Vorhandensein dieser Tyrothrixart dagegen, die nach Angabe des Verf.'s stets sehr zahlreich vertreten war, scheint dieser Käseart eigentümlich zu sein, denn in Hartkäsen und zahlreichen Weichkäsearten (Brie, Camembert, Servette u. s. w.) kommen sie nach Erfahrung des Referenten nur sehr spärlich vor. Woher diese Unterschiede herrühren, müssen weitere Untersuchungen lehren. Nicht unwahrscheinlich ist, daß, wie verschiedene Bakterienarten die Milch z. B. bitter machen können, auch verschiedene Bakterienspecies an dem so komplizierten Reifungsprozesse je nach den sie begünstigenden Bedingungen sich beteiligen können. Ueberhaupt scheint der Reifungsvorgang bei dem Limburgerkäse, wie schon der eigentümliche Geruch es zeigt, ein wesentlich anderer zu sein, als bei Emmenthaler oder gewöhnlichen Weichkäsen.

von Freudenreich (Bern).

Freudenreich, Ed. v., Beitrag zur Kenntnis der Ursachen des bitteren Käses und der bitteren Milch. (Landw. Jahrb. d. Schweiz. Bd. VIII. p. 135.)

Es ist wahrscheinlich, daß nicht ein Mikroorganismus oder nur eine Gruppe von Bakterien befähigt zu sein scheint, in der Milch Bitterkeit zu erzeugen, sondern es ist vielmehr diese Bitterkeit der Milch eine Begleiterscheinung verschiedener bakterieller Zersetzungen, und sie kann daher von sehr verschiedenen Mikroorganismen verursacht werden. Das Bitterwerden der Milch ist also nicht ein spezifisch einheitlicher Prozeß, sondern bloß eine Nebenerscheinung anderer Gärungen. In engem Zusammenhange mit den Ursachen der bitteren Milch steht auch die im Käse manchmal auftretende Bitterkeit. Verf. hat auf einem in Reutigen, Kanton Bern, hergestellten Hartkäse einen Mikroorganismus gezüchtet, der die Ursache des beobachteten Käsefehlers war, da derselbe sowohl in Milch, als auch in Käsen den gleichen bitteren Geschmack hervorzurufen imstande war. Der gefundene Mikroorganismus — Micrococcus casei amari — ist ein Micrococcus; derselbe ist jedoch selten ganz rund, sondern mehr von ovaler Form. Sein Durchmesser beträgt etwas weniger als 1 μ; er ist schwach beweglich. Nach seinem Verhalten in der Milch ist er ein Milchsäurebildner und besitzt gleichzeitig die Fähigkeit, die Gelatine zu verflüssigen, was bei Milchsäurefermenten relativ selten beobachtet wird. Gegenüber äußeren Einflüssen und Desinficienten ist der M. casei amari nicht sehr widerstandsfähig. Durch eine Temperatur von 70° wird er bereits nach 5 Minuten abgetötet. Kleine Stückchen Filtrierpapier wurden in eine Bouillonkultur eingetaucht, bei 35° getrocknet und in Zeitabständen von 24 Stunden in Bouillon eingesät. Als Grenze darf man annehmen, daß auf ca. seit 10 Tagen eingetrockneten Papierstreifen die Bakterien getötet sind. Von den desinfizierenden Substanzen wirkten Sublimat und Karbolsäure sehr energisch. Bei Verbrennung von 40 g Schwefel pro cbm war er nach 3 und 8 Stunden noch am Leben, nach 24 Stunden aber abgetötet. Gegen Ammoniakdämpfe hingegen war der M. casei amari sehr widerstandsfähig, nachdem er selbst nach

rend der regenreichen Jahre sind sie günstig, aber ihr Einfluß ist gering oder vielmehr schädlich während trockener Jahre.

Gaben bis zu 5 g Chlorkalium auf 1000 g Erde wirkten günstig; darüber hinaus verminderte sich die Menge der gebildeten Nitrate.

Chlornatrium übt, indem es sich im Boden in Chlorkalium umwandelt, eine derjenigen des direkt zugesetzten Chlorkaliums analoge Wirkung aus. L. Hiltner (Tharand).

Tubeuf, R. v., Pflanzenkrankheiten durch kryptogame Parasiten veranlaßt. Eine Einführung in das Studium der parasitären Pilze, Schleimpilze, Spaltpilze und Algen; zugleich eine Anleitung zur Bekämpfung von Krankheiten der Kulturpflanzen. Mit 306 in den Text gedruckten Abbildungen. Berlin (Springer) 1895.

Zu den bereits vorhandenen bekannten größeren pflanzenpathologischen Werken von Frank, Sorauer und Hartig tritt mit dem Vorliegenden ein viertes, welches sich zunächst insofern von jenen unterscheidet, als es ausschließlich die durch niedere Organismen hervorgerufenen Krankheitserscheinungen in den Kreis der Betrachtung zieht, somit also die nichtparasitären Erkrankungen neben den durch einige Phanerogamen und tierische Schädlinge überhaupt hervorgerufenen von der Behandlung ausschließt. Wir haben es somit im wesentlichen mit einer phytopathologischen Mykologie zu thun.

Verf. gliedert den Stoff in zwei Hauptteile, einen allgemeinen und einen speziellen Teil, von denen der zweite den größeren Teil (ca. $^5/_6$) des ganzen Werkes ausmacht. Im allgemeinen Teil wird neben dem kürzer besprochenen Mutualismus und Nutricismus in ausführlicherer Weise der eigentliche Parasitismus behandelt und hier in verschiedenen Kapiteln eine größere Reihe bezüglicher Punkte erörtert, die teilweise an diesem Orte zum erstenmal ein genaueres Eingehen erfahren. Die einzelnen Kapitel behandeln u. a. das Verhältnis der Parasiten zu den Saprophyten, die Nahrungsaufnahme der parasitären Pilze, die Reaktionen der Wirtspflanzen auf den Angriff, Wirkungen parasitärer Pilze auf das Leben des Wirtes, seine Gestalt und anatomischen Verhältnisse, die Wirkungen des Substrats auf die Entwickelung des Parasiten, natürliche und künstliche Infektion. Weitere Besprechung erfahren dann die Disposition der Pflanzen zu Pilzkrankheiten, die praktische Bedeutung der Pilzkrankheiten und insbesondere die Vorbeugungs- und Bekämpfungsmaßregeln bei landwirtschaftlich, forstlich und gärtnerisch wichtigen Pilzerkrankungen.

Der spezielle Teil führt in systematischer Anordnung die einzelnen der in Betracht kommenden Formen auf, schließt somit an die Gruppen der Phyco- und Mycomyceten (letztere als Ascomyceten, Ustilagineen, Uredineen, Basidiomyceten und Fungi imperfecti gesondert) diejenigen der Myxomyceten, Bakterien und Algen, während der Beschluß durch zwei Verzeichnisse einerseits der Parasiten, andererseits der Nährpflanzen, technischen Ausdrücke und Vulgärbezeichnungen der Krankheiten gemacht wird.

Der Text ist reichlich durch Holzschnitte erläutert, welche zu einem guten Teile vom Verf. selbst photographisch aufgenommene Habitusbilder der erkrankten Pflanzen bez. ihrer Organe darstellen. Sie gereichen dem Werke nicht allein zur Zierde, sondern geben ihm auch einen besonderen Wert, denn gerade an Abbildungen dieser Art mangelt es bisher noch allzusehr, wennschon die meisten Leser die mit ihrer Herstellung verbundenen Mühen und Schwierigkeiten unterschätzen dürften und manche wohl selbst künstlerisch ausgeführte „Bilder" wirklich naturgetreuen Abbildungen vorziehen. Photographieen, wie sie uns den Hallimasch im Walde (Fig. 201), die Schwammbuche auf dem Bilde aus dem bayerischen Walde (Fig. 242), das Absterben eines Erlenhorstes durch Polyporus igniarius (Fig 239), den von Hexenbesenbildungen befallenen Kirschbaum (Fig. 53), die vom Mutterkorn befallenen Kornähren, die brandigen Haferähren (Fig. 35) u. a. vorführen, kommt ein thatsächliches Verdienst um die Verbreitung der Kenntnis von den krankheitserregenden Pilzen und den Pilzkrankheiten überhaupt zu, denn sie leisten mehr als die detailliertesten Beschreibungen samt zahlreichen, dem Laien oder Studierenden mehr oder weniger schwer verständlichen und praktisch minder wichtigen mikroskopischen Bildern. Vielen Lesern dürfte z. B. das Bild Fig. 261 (Hallimaschkolonie) ein aus der Natur ganz bekanntes sein, ohne daß einer derselben über den eigentlichen Namen des Pilzes und dessen Bedeutung bisher hinreichend ins Reine kam.

Die Aufzählung der einzelnen Pilzarten berücksichtigt so ziemlich alle bis Ende 1894 bekannt gewordenen pathogenen Species; die minder wichtigen sind kurz aufgenannt, die bemerkenswerteren ausführlicher besprochen, wobei auch die vollständige Litteratur bis zu dem genannten Zeitpunkte berücksichtigt und citiert wurde.

Auf Einzelheiten kann hier natürlich nicht eingegangen werden und ebensowenig ist es am Platze, auf Punkte, bezüglich deren man vielleicht anderer Meinung sein könnte (Definition des Parasitismus, Einteilung der Parasiten u. a.), besonders hinzuweisen. Angenehm berührt jedenfalls die kritische Behandlung, welche unter anderem auch den Bakterienkrankheiten zu teil wird. Wenn das Werk auch nicht den Zweck hat, systematische Bestimmungsbücher zu ersetzen, sondern, wie Verf. in dem Vorwort sagt, im wesentlichen eine „Einführung" in die Kenntnis von den pathogenen Mikroorganismen zu geben bestimmt ist, so dürfte es doch besonders geeignet sein, eine allgemeinere Bekanntschaft mit den häufigeren und wichtigen pathogenen Pilzarten unserer Flora zu vermitteln. Daß Verf. andererseits besonderes Gewicht auf die speziell den Praktiker interessierenden Fragen legt, sei hier endlich noch hervorgehoben.

Die Ausstattung des ansehnlichen Bandes ist eine allen Ansprüchen gerecht werdende. Wehmer (Hannover).

Dietel, P., Ueber zwei Abweichungen vom typischen Generationswechsel der Rostpilze. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankheiten. Bd. III. p. 258—266.)

Im allgemeinen galt es als Regel, daß Uredineenspecies mit

Aecidienform aus den Aecidiensporen nie wieder Aecidien erzeugen, diese vielmehr immer nur aus den Sporidien der Teleutosporen entstehen; durch Aussaat der Aecidiosporen wird bei Arten mit vollkommener Entwickelung die Uredoform hervorgerufen, welche schließlich die Teleutosporenform produziert, und den Sporidien dieser entspringt alsdann wieder die Aecidienform. Allerdings können, wie bereits de Bary hervorhob, gelegentlich auch an einem Aecidien-bildenden Mycel direkt Uredo- und Teleutosporen späterhin entwickelt werden und Plowright erzog neuerdings aus Sporidien von Puccinia graminis die Uredoform. Verf. fügt dem hinzu, daß nun bei gewissen Arten die ausgesäeten Aecidiensporen direkt wieder Aecidien bildende Mycelien liefern können, und teilt des weiteren seine mit Puccinia Senecionis Lib. und Uromyces Ervi (Wallr.) Plowr. angestellten Kulturversuche mit.

Die erstere, auf mehreren Senecioarten vorkommende Art bildet auf Senecio Fuchsii im Mai Becherfrüchte neben Lagern von Wintersporen, welche beide also an den primären, durch Sporidienkeimung erzeugten Mycelien entstehen. Da aber weiterhin den ganzen Sommer hindurch auf neugebildeten Blättern neue Aecidien erscheinen, das Mycel nach Verf. jedoch nur auf engere Stellen der Blätter beschränkt ist und nicht vom Stengel in die jungen Blätter eindringt, andererseits aber die Teleutosporen erst nach einer Winterruhe keimen, so muß also während des ganzen Sommers fortgesetzt Neuinfektion stattfinden und für solche kommen eigentlich nur die Aecidiensporen in Betracht. Zum Nachweis dieser Thatsache benutzte Verf. eingetopfte gesunde Exemplare der genannten Seneciospecies, die mit Aecidien-tragenden Teilen kranker Exemplare in Berührung gebracht wurden und nach 2—3 Wochen reichlich Aecidien (ohne oder neben gleichzeitigen, früheren oder späteren Teleutosporen) entwickelten; auf den im Freien weiterkultivierten Pflanzen erschienen vorwiegend die letzteren. Aus dem Verhalten der Kontrollpflanzen und dem Gesundbleiben der nach dem Infektionsexperiment noch gebildeten jüngeren Blätter schließt Verf. auf Abwesenheit der etwa in Betracht kommenden Fehlerquellen.

Als zweiter Pilz wurde zu den Versuchen der auf Vicia hirsuta vorkommende Uromyces Ervi (Wallr.) Plowright herangezogen. Auch hier werden im Freien von Mai ab den ganzen Sommer hindurch Aecidien erzeugt, während Sommersporen spärlich sind und Wintersporen erst von Juli ab auf der gleichen Pflanze erscheinen. Wie vorher wurden eingetopfte Exemplare nach gewissen Vorsichtsmaßregeln mit Aecidien-kranken Pflanzen in Berührung gebracht und nach ca. 10 Tagen das reichliche Auftreten der gleichen Fruktifikation neben spärlichen Uredolagern konstatiert, während die Kontrollpflanzen frei davon blieben. Spermogonien kommen bei keiner der beiden hier genannten Arten vor.

In den Schlußbemerkungen weist Verf. u. a. darauf hin, daß auch noch andere Arten sich ähnlich verhalten dürften und in solchen Fällen, wo das Aecidien-bildende Mycel innerhalb der Nährpflanze perenniert, eine Teleutosporenform in dem Entwickelungsgange der betreffenden Art nicht notwendig zur Ausbildung zu gelangen braucht,

so daß es also wirklich isolierte Aecidien, die nicht zu einer Teleutosporenform mit heteröcischer Entwickelung gehören, geben könnte. Aehnliches liegt wahrscheinlich auch bei dem sehr verbreiteten Aecidium leucospermum DC. auf Anemone nemorosa vor, da eine Teleutosporenform in ähnlicher Verbreitung fehlt und die Zugehörigkeit zu Puccinia fusca (Relh) nicht mehr angenommen wird. Dahin gehören wahrscheinlich auch Aec. Magelhaenicum Berk auf der Berberitze, Aec. Primulae DC. auf Primula und andere. Wehmer (Hannover).

Vuillemin, P., Sur une maladie des Agarics, produite par une association parasitaire. (Bull. de la Soc. Mycol. de France. 1895. p. 16.)

Verf. beobachtete an Tricholoma terreum eigenartige Mißbildungen, bei denen der Hut ganz unterdrückt oder nur zum Teil ausgebildet war. Als Ursache wies er Mycogone rosea nach, von der ein Verwandter, M. perniciosa, die als „Molle" bekannte Krankheit der Champignons verursacht. Das Fleisch des Tricholoma wird durch den Angriff des Parasiten nicht in seiner Konsistenz verändert. An vielen Stellen der Fruchtkörper zeigten sich nun Erweichungen und damit verbundenes Faulen des Fleisches, die von der Mycogone nicht herrühren konnten. Als Grund für diese zweite Erscheinung ergab sich die Anwesenheit eines zooglöenbildenden Bacillus. Derselbe dringt erst ein, wenn die Mycogone die jungen Fruchtkörper befallen hat und wandert höchst wahrscheinlich durch die von den Fäden gebohrten winzigen Löcher ein. Es ergiebt sich also eine gewisse Abhängigkeit, in der die beiden Parasiten von einander stehen.

Was der Verf. sonst noch über den Bau der Mycogone und ihre Unterschiede gegenüber dem „Molle"-Pilze anführt, ebenso über das Verhältnis der ein- und zweisporigen Konidien zu einander, darauf sei hier nur hingewiesen. Lindau (Berlin).

Costantin, J. et **Matruchot, L.**, Recherches sur le Vert-de-gris, le Plâtre et le Chanci. (Revue générale de botanique. Tome VI. No. 67. p. 289. Mit 1 Tafel.)

Die drei Hauptkrankheiten der in der Umgegend von Paris (in den sog. Carrières, d. h. verlassenen Steinbrüchen) in großem Maßstabe betriebenen Champignonkulturen haben von den Pilzzüchtern die Namen „Vert-de-gris", „Plâtre" und „Chanci" erhalten. In der vorliegenden Arbeit haben sich die Verff. die Aufgabe gestellt, in erster Linie die Merkmale des „Vert-de-gris" und des „Plâtre" genau festzustellen, indem sie Reinkulturen der betreffenden Parasiten des Champignonmyceliums anstellten und weiter zu untersuchen, wo diese Krankheiten herstammen und welche Rolle dieselben in ökonomischer Hinsicht bei den Champignonzüchtern spielen.

Der Chanci ist nach früheren Untersuchungen eines der Verff. [1])

---

1) Costantin, Le chanci (Bull. soc. Mycol. 1892) und Derselbe, Les Oreilles de Chat des champignonnistes (ibid. 1893).

durch das Mycelium zweier Agaricineen: Clitocybe candicans und Pleurotus mutilus verursacht.

Das Vert-de-gris ist die Folge der Entwickelung und des Schmarotzens eines anderen Pilzes: der Myceliophthora lutea Cost. auf dem Mycelium der Psalliota. Das kranke Mycelium zeigt eine Menge unregelmäßige Häufchen von rein gelber Farbe (nicht spanngrün, wie der Name Vert-de-gris etwa vermuten lassen könnte). Die Reinkultur des Parasiten zeigt farblose Myceliumfäden mit seitenständigen kurzen Stielchen, welche je 2—4 Sporen tragen. In einem späteren Stadium der Kultur entwickeln sich Chlamydosporen durch eine lokale Anschwellung eines Myceliumfadens, Bildung von zwei isolierenden Zellwänden, Verdickung, Cuticularisation und okergelbe Färbung der Sporenwandung. Diese Chlamydosporen entstehen oft in Menge auf demselben Mycelfaden und bilden dann rosenkranzförmige Reihen.

Die Myceliophthora, welche als Saprophyt auf den verschiedensten Nährmedien kultiviert werden kann, scheint als echter Parasit auf dem Mycelium der Psalliota zu leben.

Der Plâtre zeigt sich in Form eines weißen pulverigen Schorfes an der Oberfläche oder im Innern der Beete. Der betreffende Pilz hat von den Verff. den Namen Monilia fimicola Cost. et Matr. erhalten. Er bildet nur Conidien in langen endständigen Reihen. Als charakteristisches Merkmal für diesen Pilz wird angegeben, daß die letzte sporentragende Zelle des fertilen Myceliumfadens eine konstante Länge von ca. 25 μ hat und sich leicht vom unteren Teile des Fadens, zusammen mit den Sporen, abtrennt.

Vert-de-gris und Plâtre werden unzweifelhaft mit dem Pferdemiste in die Pilzzüchtereien gebracht, die Kontamination des Düngers mit den betr. Parasiten scheint nachträglich, d. h. außerhalb des Stalles stattzufinden.

Was die nachteilige Wirkung der betreffenden Krankheiten auf die Champignonkultur betrifft, so haben die von den Verff. angestellten Versuche folgende Resultate geliefert. Der Plâtre wird dabei nicht berücksichtigt, weil er zur Zeit nicht erhältlich war.

a) Kultur im Keller (en Carrières).

Ertrag per laufenden Meter des Beetes nach Aussaat mit:

gesunder reiner Champignonerde (blanc sain) .	1540	g Champignons
halb blanc sain + halb blanc vert-de-grisé .	475	„ „
halb blanc sain + halb blanc chanci . . .	900	„ „
blanc chanci allein	262	„ „

b) Kultur in freier Luft.

Ertrag wie oben nach Aussaat mit:

halb blanc sain + halb blanc chanci . . .	400	g Champignons
blanc chanci allein	25	„ „
halb blanc sain + halb blanc vert-de-grisé .	870	„ „
blanc vert-de-grisé allein	0	„ „

Die Kultur im Keller liefert also weit bessere Ergebnisse als diejenige in freier Luft.

Es ist dank ihrer geheim gehaltenen Methoden, reine gesunde Champignonerde zu erzeugen, daß die Pariser Champignonzüchter in

anerkanntem bedeutendem Vorteile vor ihren auswärtigen Konkurrenten bleiben. Sie können öfters frische Aussaat mit dieser frischen Bruterde vornehmen und sich auf diese Weise gegen die Gefahr der Uebertragung der Krankheiten von alten auf neue Beete wirksam schützen und eine wirklich rentierende Kultur erzielen.

Die Verf. glauben, eine Züchtungsmethode gefunden zu haben, welche imstande wäre, das ganze Jahr hindurch beliebige Quantitäten des frischen und reinen Psalliotamyceliums zu liefern und behalten sich vor, in einer weiteren Mitteilung auf diesen Punkt zurückzukommen.

Die lithogr. Tafel enthält mikroskopische Abbildungen der Myceliophthora lutea und der Monilia fimicola.

Amann (Lausanne).

Debray, F., La brunissure en Algérie. (Compt. rend. CXIX. 1894. p. 110.)

Die Krankheit, die bekanntlich von Viala und Sauvageau einem Myxomyceten, Plasmodiophora Vitis, zugeschrieben wird, hat sich in der Umgegend von Algier seit Mai gezeigt. Die ergriffenen Stöcke entwickeln sich sehr langsam, ihre Blätter bleiben klein. In wärmeren Regionen erreichen die Reben ihre normale Länge und zeigen sich nur an der Basis befallen. Die Reben der am stärksten heimgesuchten Stöcke vertrocknen teilweise ihrer ganzen Länge nach.

Die Farbe der ergriffenen Blätter ist meist braun und der Beginn der Krankheit macht sich durch das Auftreten brauner Punkte bemerkbar. Bei gewissen Sorten dagegen sind diese Punkte selten und die Blätter nehmen sofort eine rote Färbung an; andere zeigen außerdem auf ihrer unteren Seite eine schwefelgelbe Farbe, welche der Gegenwart des Parasiten an den Haaren zuzuschreiben ist. Stark erkrankte Blätter sind oft ausgehöhlt und besitzen umgebogene Ränder. Die Stengel der ergriffenen Stöcke zeigen mehr oder minder deutlich, immer aber an getöteten Reben, Symptome, welche bisher unter dem Namen Anthracnose ponctuée bekannt waren. Der Parasit wurde in den Epidermiszellen fast aller Organe des Weinstockes angetroffen, ebenso auch auf der Oberfläche derselben und an den Haaren. Er zeigt sich unter der Form kugeliger, abgeplatteter oder unregelmäßiger, gelappter oder netzförmiger Anhäufungen, die gewöhnlich sehr kleine Vakuolen enthalten. Die Bildung der Sporen ließ sich an den befallenen Haaren beobachten, die oft von einem Plasmodium überzogen sind, das mehr als $^1/_{10}$ mm Durchmesser erreichen kann. Die Sporen besitzen doppelte Kontur, sind oval, glatt und ihr größter Durchmesser beträgt 10—12 μ, selten nur 8—9 μ. Schwefel und Bordelaiser Brühe bleiben gegen den Parasiten erfolglos. Auch das Ueberstreuen der befallenen Pflanzenteile mit gelöschtem Kalke gab kein bestimmtes Resultat.

L. Hiltner (Tharand).

Viala, Pierre, Sur les périthèces de l'oïdium de la Vigne (Compt. rend. CXIX. 1894. 411.)

Nachdem Couderc im Jahre 1892 in Frankreich die Perithecien des Rebenmehltaues aufgefunden hat, ist die Identität des europäischen Oidiums (Erysiphe Tuckeri) und des amerikanischen Oidiums (Uncinula spiralis) als unzweifelhaft erwiesen.

Diese Perithecien, welche seit 1847 in Europa niemals konstatiert worden waren, sind 1893 in Frankreich noch viel reichlicher aufgetreten. Aber auch andere Erysipheen, die bisher nie oder nur selten Früchte bildeten, haben in diesem Jahre fruktifiziert, so Sphaerotheca pannosa, Sp. Epilobii, Erysiphe horridula, E. communis, Uncinula adunca. Diese auffallende Erscheinung, welche der außerordentlich hohen Wärme des Sommers 1893 und der darauf folgenden unvermittelten Temperaturabnahme zugeschrieben werden muß, bestätigt die Hypothese, welche Verf. bereits 1887 über den amerikanischen Ursprung des europäischen Oidiums, sowie über die Abwesenheit der Perithecien in Europa und Californien und ihre relative Häufigkeit im Norden der Vereinigten Staaten aufstellte.

Der Parasit, welchen de Bary auf Gonidienträgern des Oidiums aufgefunden hat, Cicinnobolus Cesatii, entwickelte sich 1893 häufig in den Perithecien von Uncinula spiralis. Im Mycel und den Gonidienträgern bildet Cicinnob. Ces. Früchte mit eigener, vielzelliger Membran, aber in den Perithecien benutzt der Pilz deren Hülle und setzt sich an Stelle des normalen Inhaltes.

Noch häufiger war ein zweiter Parasit. Manche Perithecien, welche äußerlich durch nichts von normalen sich unterschieden, waren durch Bakterien zerstört, so daß meist ihr ganzer Inhalt aus solchen bestand. Aus diesem ungewöhnlichen Falle von Parasitismus, für welchen Verf. kein zweites Beispiel kennt, nimmt derselbe Anlaß, die Frage aufzuwerfen, ob gewisse Spermogonien von Pilzen nicht vielleicht analoge Bildungen darstellten. — Die aufgefundenen Bakterien waren zweimal so lang als breit, und bildeten in Kulturen oder in alten Perithecien an den Polen je eine Spore, wobei sie sich in der Mitte etwas einschnürten. L. Hiltner (Tharand).

Costantin et Matruchot, Culture d'un Champignon lignicole. (Compt. rend. CXIX. 1894. p. 752.)

Die Kultur holzbewohnender Schwämme hat, wie es scheint, im Altertume eine ziemliche Rolle gespielt. So geht aus einer Stelle des Dioscorides hervor, daß man die Rinde der weißen und schwarzen Pappel in Stücke schnitt und diese in mit Dünger gefüllte Gruben einlegte; es sollen sich dann die ganze Saison hindurch eßbare Schwämme gebildet haben. Man nimmt an, daß es sich hier um Pholiota aegerita gehandelt habe, und Devaux will wirklich Fruchtkörper dieses Pilzes künstlich in größeren Mengen erzielt haben durch Vergraben von Pappelholzscheiben, die mit den Lamellen von Pholiota gerieben worden waren. Abgesehen von Japan, wo die künstliche Pilzzucht in großer Blüte steht, ist dieses Experiment nach Meinung der Verff. bisher isoliert geblieben. (Vergl. jedoch Ludwig, Lehrbuch der niederen Kryptogamen. 1892. p. 570 unter Schröter. D. Ref.)

Verff. versuchten die Kultur von Collybia velutipes und die von ihnen erhaltenen Resultate zeigen in der That, daß man holzbewohnende Pilzarten ohne allzu große Schwierigkeit künstlich erzeugen kann. Sie ließen die Sporen des Pilzes in sterilisierten Medien keimen und übertrugen das gewonnene Mycel alsdann auf sterilisierte Holzstücke (Robinia Pseudacacia), welche in Röhren bei konstanter Temperatur aufbewahrt wurden. 2 Monate nach der Aussaat, die gegen Ende August stattfand, hatten sich die Fruchtkörper entwickelt. Dieselben waren normal geformt, blieben aber klein. Es ist wahrscheinlich, daß man bei Benutzung größerer Röhren und Anbringung von Ventilationsvorrichtungen noch bessere Resultate erhalten kann. L. Hiltner (Tharand).

Dufour, L. et **Hickel, R.**, Les ennemis du pin dans la Champagne crayeuse. (Revue générale de botanique. Tome VI. No. 71. p. 433.)

Seit einigen Jahren haben die Föhrenbestände der Champagne crayeuse unter der Wirkung verschiedener tierischer Parasiten stark gelitten. Der ärgste Schaden ist durch den sog. Kiefernspinner (Gastropacha pini L.) (Lepidoptera) verursacht worden, welcher in dieser Provinz seit 2—3 Jahren mehr als 3000 h Föhrenwald zerstört hat und mit jedem Jahre sich weiter verbreitet. Die Verff. geben eine genaue Beschreibung des Insektes und seiner biologischen Verhältnisse in allen seinen Entwickelungsformen.

Außer dem Kiefernspinner giebt es aber in der Champagne noch andere Feinde der Föhre, so z. B. die Retinia Buoliana WV. (der sog. Kieferntriebwickler), ein Microlepidopter, der Familie der Tortricideae angehörend, welche als Raupe die Terminalknospen des jungen Föhrenstammes zerstört. Dann die Fidonia piniaria L. (der Kiefernspanner) (Geometridae) und schließlich ein Hymenopter: Lophyrus rufus Kl. (rotgelbe Kiefernblattwespe) (Fam. der Tenthredinae).

Was die Mittel zur Bekämpfung dieser Schädlinge betrifft, so kommen die Verff. zu folgenden Schlüssen: Die öfters empfohlene Anbringung eines Teerringes auf die Stämme, um die Raupe zu fangen, scheint hier aus verschiedenen Gründen unthunlich. Die Isolierung der befallenen Zonen durch Gräben ist kaum mehr durchführbar: es würde sich vielmehr empfehlen, die jungen, noch gesünderen Bestände auf diese Weise zu isolieren. Die Hilfe der verschiedenen Parasiten (Ichneumoniden u. a.) der Föhrenfeinde kann unter Umständen sehr wirksam sein; leider aber ist auf diese Hilfe nicht mit Sicherheit zu rechnen. Am meisten zu empfehlen wäre: bei der Exploitation der kranken Bestände alle Abfälle sofort an Ort und Stelle zu verbrennen, dies bevor die Raupen auf die Bäume steigen, d. h. von Mitte Herbst bis Frühling, die Erde am Fuße der Föhren mit Petroleum zu begießen und alte Schmierlumpen herumzustreuen, im Frühling die Raupen und im Juli die Cocons sammeln zu lassen. Pinus Laricio, welcher weit weniger angegriffen wird als P. silvestris, sollte überall an Stelle des letzteren gepflanzt werden. Amann (Lausanne).

Decaux, Sur une chenille inédite, dévorant les feuilles et les fruits du figuier, dans l'arrondissement du Puget-Théniers. (Compt. rend. CXIX. 1894. p. 695.)

Aus kleinen Raupen, welche die Blätter und Früchte von Feigenbäumen zerstörten, entwickelte sich Simaethis nemorana Curtis (Syn. Tortrix nemorana Hubner, Asopia incisalis Treits, Xylopoda nemorana Dupouchel). Verf. bringt nähere Angaben über die Entwickelung und zweckmäßige Bekämpfung des Schädlings. Es wird empfohlen, die abgefallenen Blätter, welche die Puppen enthalten, zu verbrennen und die Baumscheiben umzugraben, um etwa ausgefallene Puppen unter die Erde zu bringen. Die ausschlüpfenden Schmetterlinge vermögen eine Erdschicht von 10—15 cm nicht zu durchdringen. L. Hiltner (Tharand).

Mangin, L., Sur la maladie du Rouge dans les pepinières et les plantations de Paris. (Compt. rend. CXIX. 1894. p. 753).

Verf. vervollständigt einige Angaben von H. Mayr über den Parasitismus von Nectria cinnabarina.

Die Gonidien (von Tubercularia) keimen nicht in destilliertem Wasser; in gekochtem Seinewasser fand die Keimung bei 10° selbst nach 48 Stunden nicht statt, bei 15—20° erfolgte sie nach 10 Stunden, doch erreichten die Keimfäden kaum die Länge der Sporen. Der Zusatz von Zucker begünstigt die Keimung, doch darf die Konzentration 1 Proz. nicht übersteigen. Die besten Nährflüssigkeiten sind die Infusionen verschiedener Hölzer, die sich bezüglich ihrer Wirksamkeit folgendermaßen gruppieren: Linde, Kastanie, Ahorn, Eiche. Ein ausgezeichnetes Kulturmedium erhält man durch Mischung einer Lindeninfusion von 2—5 g Holz auf 100 ccm Wasser, Zuckerlösung (1 : 100) und Gelatine.

Die Bildung der sekundären Gonidien an den durch die Keimung entstandenen Mycelfäden erfolgt um so früher, je weniger reichlich oder zusagend die Nährstoffe sind. — Natriumnaphtolat, 5 : 10000, verhindert die Keimung; Kupfervitriol, 3 : 10000, verlangsamt sie nur; Tannin, 4 bzw. 2,5 : 1000, tötet fast alle Sporen, während 1 : 1000 die Keimung verlangsamt.

Bei 21° beginnt die Keimung nach 4 oder 5 Stunden, bei 10° nach 25—28 Stunden; das Optimum scheint zwischen 18 und 20° zu liegen.

Die Gonidien sind sehr empfindlich gegen die Einwirkung des zerstreuten, selbst schwachen Lichtes; ihre Keimung wird durch dasselbe merklich verzögert, bisweilen unterdrückt. Die einmal hervorgebrachte verzögernde Wirkung setzt sich dann selbst in der Dunkelheit fort.

Diese Befunde gestatten, die Bedingungen der Infektion der Bäume zu präzisieren. Im Sommer beeinflussen die Trockenheit und die starke Beleuchtung die Keimung, im Winter vermindert die niedrige Temperatur, indem sie die Keimung verlangsamt, die Gefahr der Infektion. Am leichtesten kann diese im Frühjahr oder Herbst erfolgen; sie geht von Wunden oder abgestorbenen Teilen aus. Das

lebende Gewebe setzt dem Parasiten einen beträchtlichen Widerstand entgegen. Die Keimschläuche dringen zunächst in das Holz ein, und zwar werden zuerst die Gefäße angegriffen, dann folgen die Holzfasern und schließlich des Holzparenchym. In der Nähe der infizierten Teile vermindert sich die Widerstandsfähigkeit des lebenden Gewebes, so daß es schließlich dem Pilz gleichfalls zum Opfer fällt. Vom Holze aus gelangt der Pilz in die Rinde, tötet dieselbe und bildet dann erst Fruktifikationen [1]).

Die Veränderungen, welche in den Geweben hervorgebracht werden, beschränken sich nicht, wie Mayr angiebt, auf die Auflösung der Stärke und die Ablagerung von dunkelgrünen Massen in den Zellen des Holzes. Infolge des Reizes, welchen der Parasit ausübt, macht sich eine Steigerung der Thätigkeit der den Gefäßen benachbarten Zellen geltend. Es erfolgt Bildung von normalen Thyllen (Ulme) oder zahlreicher gummöser Thyllen (Linde, Kastanie) oder die Entstehung von gummösen Thyllen wird im Gegentheil gehemmt (Ailanthus). Nach der Zerstörung der Stärke wird die Innenhaut der Zellmembranen aufgelöst und in der Rinde fallen außer den verholzten Fasern alle Zellen samt Inhalt dem Pilze zum Opfer; der Kork allein widersteht der Einwirkung des Parasiten.

Bei einem Ailanthus fand sich Mycel in Entfernung von 60 cm von der Stelle, wo die Gonidienpolster zum Vorscheine kamen. Abwaschungen bereits erkrankter Teile sind daher nicht wirksam. Nur ein Präventivmittel kann empfohlen werden, nämlich Verhinderung der Infektion abgestorbener Teile oder Wunden durch Ueberstreichen mit Teer oder einem Gemenge von gedörrten Leinsamen, Zinkoxyd und Ruß. Auch das Waschen der Wunden mit Tanninlösung (5:100) oder Natriumnaphtolat (1 : 100) kann Verwendung finden.

L. Hiltner (Tharand).

Mangin, L., Sur une maladie des Ailantes, dans les parcs et promenades de Paris. (Compt. rend. T. CXIX. 1894. p. 658.)

Im Laufe des Sommers 1894 wurden die Ailanthus-Bäume gewisser Promenaden und Gärten in Paris von einer Krankheit heimgesucht, deren erste Symptome sich bereits vor 3—4 Jahren gezeigt hatten. Die Erkrankung, welche in vielen Fällen zum Eingehen der Bäume führte, äußerte sich darin, daß, nachdem die Belaubung in normaler Weise vor sich gegangen war, nach Beginn des Sommers die Blätter nach und nach vertrockneten und abfielen, so daß die Bäume schon im Juni und Juli einen vollkommen herbstlichen Anblick boten. Manche derselben bildeten zwar neue Triebe, doch verwelkten dieselben meist ebenfalls wieder. An den Blättern selbst war nur Tetranychus telarius aufzufinden, der das Abfallen derselben nicht veranlaßt haben konnte. Die Untersuchung gefällter Stämme ergab, daß der Sitz der Krankheit im Holze zu suchen sei, das bei den kranken Bäumen durch seine gelbe Farbe auffiel und einen sehr geringen Jahreszuwachs aufwies.

---

1) Vergl. hierzu die gegenteiligen Beobachtungen von Wehmer. Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. 1894. IV. 77. D. Ref.

Während in gesunden Bäumen die zahlreichen und breiten Gefäße an der Innenseite der Jahresringe keine normalen Thyllen, nur hier und da einige gummöse Thyllen aufweisen, ist in den kranken Stämmen eine große Zahl von Gefäßen mit gummösen Thyllen angefüllt, und zwar um so mehr, je schwächer die Jahresringe entwickelt sind. In Scheiben von erkranktem Holze stieg eine gefärbte Gelatinelösung nur durch den äußersten und einen Teil des vorletzten Jahresringes, während in gesundem Holze sämtliche Gefäße schnell und vollständig Farbstoff aufnahmen. (Es ist hier zu bemerken, daß Verf. seine Zuwachsmessungen an 4 kranken Bäumen anstellte, die sämtlich über 20 Jahre alt waren, während der zum Vergleich dienende gesunde Stamm erst 8 Jahre zählte. Obwohl bestimmte Angaben hierüber nicht gemacht werden, scheint es doch sehr wahrscheinlich, daß auch bei dem Färbungsversuche derartige Altersunterschiede eine Rolle spielen. D. Ref.) Das Holz kranker Bäume ist stets von einem Mycel durchwuchert, das sich besonders in den Gefäßen findet und bisweilen einen vollständigen Filz bildet. Die Gefäße und gewisse Holzzellen schließen außerdem eine gelbe, in Wasser und Alkohol unlösliche Substanz ein, welche der befallenen Stelle die veränderte Farbe verleiht.

Verf. sieht die primäre Ursache des Absterbens der Bäume in der Bildung der gummösen Thyllen, welche durch Verstopfen der Gefäße bewirken, daß die Blätter an Wassermangel leiden. Die Mycelien, deren Zugehörigkeit noch nicht festgestellt werden konnte, sollen erst in die hierdurch geschwächten Bäume eindringen und sie vollends zum Absterben bringen.

Empfohlen wird gute Drainage und Düngung der Bäume.

L. Hiltner (Tharand).

Lecomte, Henri, Les tubercules radicaux de l'Arachide (Arachis hypogaea L.) (Compt. rend. CXIX. 1894. p. 302.)

Eriksson erklärte 1874, daß Arachis die einzige Leguminose sei, welche keine Wurzelknöllchen besitze. Aber schon Poiteau hat die Knöllchen dieser Pflanzenart im Jahre 1852 abgebildet, und Verf., welcher am Congo Arachis zu untersuchen Gelegenheit hatte, fand an den Wurzeln zahlreiche Knöllchen. Dieselben sind kugelig, meist einfach, im Maximum 1,5—2 mm stark. Die vom Verf. gegebene ausführliche Beschreibung der Anatomie dieser Knöllchen beweist, daß dieselben in allen wesentlichen Eigenschaften mit den Knöllchen der übrigen Leguminosen übereinstimmen. Es wird empfohlen, die Erdnuß zwischen den Kaffee- und Kakaobäumen anzupflanzen und sie zur Zeit der Blüte unterzupflügen.

L. Hiltner (Tharand).

Schutzimpfung, künstliche Infektionskrankheiten, Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Mann, Harold H., Action de certaines substances antiseptiques sur la levure. [Travail du laboratoire de chimie biologique à l'Institut Pasteur.] (Annales de l'Institut Pasteur. 1894. p. 785.)

Zu den Versuchen wurde Saccharomyces cerevisiae in Reinkultur, oder, wenn besonders große Mengen nötig waren, Hefesätze des Handels benutzt. Die Resultate der Arbeit lassen sich in folgender Weise zusammenfassen:

1) Für gewisse Metallsalze — in das Bereich der Untersuchung wurde gezogen Kupfersulfat, Eisensulfat, Bleiacetat und Sublimat — gilt der Satz, daß die zum Abtöten der Hefe notwendige Menge des Antiseptikums wächst mit der Menge der abzutötenden Hefezellen. Für die Karbolsäure hat dies keine Geltung.

2) Die antiseptische Wirkung der Kupfer-, Blei-, Eisen- und Quecksilbersalze beruht in der Aufnahme (Fixation) der Metalle in den Hefezellen. Die aufgenommene Menge ist bei verschiedenen Metallen verschieden; sie ist ferner abhängig von der Zeit der Einwirkung, von der Konzentration der Lösung und von dem Verhalten der Hefe.

3) Die Aufnahme und das Festhalten der Metalle in den Hefezellen geschieht, wenigstens teilweise, in Form unlöslicher Verbindungen mit Phosphorsäure, aber auch die Zellwand ist imstande, die Metalle in sehr inniger Weise zu fixieren. Außerdem können durch die Metalle gewisse organische Stoffe der Zellen niedergeschlagen werden. Gerlach (Wiesbaden).

Corrigendum.

In dem Aufsatze von Dr. M. W. Beyerinck: „Ueber Nachweis und Verbreitung der Glukase" (dies. Centralbl. II. Abt. No. 7/8) ist auf p. 269. Tabelle B ein Fehler enthalten; wir bringen daher nochmals die Tabelle in berichtigter Form:

B.

Amylase-gattungen	Umwandlungsprodukte aus Erythrodextrin		
	Maltodextrin	Maltose	Glukose
I. Glukase	$+^v$	$+^v$	+
II. Maltase	—	—	—
III. Granulase	$+^v$	+	—

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

DR. WILHELM WINDISCH.

Allgemeines über Bakterien und andere Mikroorganismen.

Abbott, A. C., The principles of bacteriology. A practical manual. 2. ed. Philadelphia (Lea Broth. et Co.) 1894.

Freund, A., Der Kampf gegen die Bakterien. (Gesundheit. 1895. No. 3, 4. p. 33—35, 49—54.)

Frothingham, L., Laboratory guide for the bacteriologist. 8°. London (Hirschfeld Brothers) 1895. 4 sh.

Gerlach, V., Ueber Fortschritte auf dem Gebiete der Bakteriologie. (Chemiker-Ztg. Jahrg. XIX. 1895. No. 40. p. 929.)

Gruber, Th., Die Arten der Gattung Sarcina. (Arb. a. d. bakt. Institute der techn. Hochschule zu Karlsruhe. I. 1895. Heft 3. p. 239.) Karlsruhe (O. Nemnich) 1895.

de Haan, J. en Straub, M., Voordrachten over bacteriologie. 8°. Leiden (S. C. van Doesburgh) 1895. 5 fl. 90 c.

Kaiser, W., Ueber einen einfachen Apparat zur Elektrolyse unter dem Mikroskope auch bei geringem Focalabstande der benutzten Objektive, welcher sich auch zu elektrophysiologischen Versuchen mit Infusorien und Bakterien eignet. Leipzig (G. Freitag) 1895. 0,40 M.

Migula, W., Ueber ein neues System der Bakterien. (Aus: „Arb. des bakt. Instituts der großh. Hochschule zu Karlsruhe".) gr. 8°. 4 p. Karlsruhe (O. Nemnich) 1895. 0,50 M.

Novy, F. G., Directions of laboratory works in bacteriology, for the use of the medical class in the University of Michigan. 8°. 209 p. Ann Arbor (Wahr) 1894.

Winterstein, E., Ueber Pilzcellulose. (Ber. d. deutsch. bot. Gesellsch. 1895. p. 65.)

Yégounow, M., Sur les sulfo-bactéries de limans d'Odessa. (Arch. des ec. biol. publ. par l'inst. impér. de médec. expérim. à St. Pétersb. Vol. III. 1895. p. 297.)

Systematik, Morphologie und Biologie der Bakterien und anderer Mikroorganismen.

Chassevant, A., Actions des sels métalliques sur la fermentation lactique. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1895. No. 8. p. 140—142.)

Esaulow, Nicolai, Bakteriologische und chemische Untersuchung des Kefir. (Pharm. Zeitschr. f. Rußland. Jahrg. XXXIV. 1895. p. 232—233.)

Fermi, C. e Montesano, G., Sull' inversione de saccarosio da parte dei microbii. (Annali d. istit. d'igiene sperim. d. r. univers. di Roma. Vol. IV. 1894. Fasc. 4. p. 383.)

Ferrier, Considérations générales sur le pléomorphisme des cils vibratiles de quelques bactéries mobiles. (Arch. de méd. expérim. 1895. No. 1. p. 58—75.)

Gerstner, R., Beiträge zur Kenntnis obligat anaërober Bakterienarten. (Aus: „Arb. des bakt. Instituts der großh. Hochschule zu Karlsruhe".) gr. 8°. 37 p. m. 2 Lichtdr.-Taf. Karlsruhe (O. Nemnich) 1895. 4 M.

Klöcker, Albert, Undersögelser over Saccharomyces Marxianus, Sacch. apiculatus et Sacch. anomalus. (Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet. Fjerde Bind. Første Hefte.) Kjøbenhavn (i Kommission hos H. Hagerup) 1895. 2 Kr. 85 Öre.

Rabinowitsch, Lydia, Ueber die termophilen Bakterien. (Zeitschr. f. Hygiene. Jahrg. XX. 1895. p. 154.)

Rénon, De la résistance des spores de l'aspergillus fumigatus. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1895. No. 5. p. 91—93.)

Sanfelice, F., Contributo allo morfologia e biologia dei blastomiceti che si sviluppano nei succhi di alcuni frutti. (Annali d. istit. d'igiene sperim. d. r. univ. di Roma. Vol. IV. 1894. Fasc. 4. p. 463—495.)

Schiönning, H., En ny og ejendommelig Ascusdannelse hos en Gjaersvamp. (Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet. Fjerde Bind. Første Hefte.) Kjøbenhavn (i Kommission hos H. Hagerup) 1895. 2 Kr. 85 Öre.

Schneider, P., Die Bedeutung der Bakterienfarbstoffe für die Unterscheidung der Arten. (Aus: „Arb. des bakt. Instituts der großh. Hochschule zu Karlsruhe".) gr. 8°. 30 p. m. 2 Taf. Karlsruhe (O. Nemnich) 1895. 2 M.

Thumm, K., Beiträge zur Biologie der fluorescierenden Bakterien. I. Heft 2. p. 290. Karlsruhe (O. Nemnich) 1895.

Vuillemin, P., Sur les Urédos du Puccinia Thesii Duby. (Bull. de la Soc. Myc. de France. 1895. p. 25.)

— —, Sur la structure et les affinités des Microsporon. (Compt. rend. T. CXX. 1895. No. 10. p. 570—573.)

Ward, H. H., Further experiments on the action of light on bacillus anthracis and on the bacteria of the Themse. (Proceed. of the Royal soc. of London. 1894. p. 315—394.)

Wenzell, W. T., A contribution to the knowledge of bacteriological chemistry. (Journ. of the Amer. med. assoc. 1894. p. 901—903.)

Winogradsky, S., Recherches sur l'assimilation de l'azote libre de l'atmosphère par les microbes. (Arch. des ec. biol. publ. par l'inst. imp. de médec. expérim. à St. Pétersb. Vol. III. 1895. p. 297.)

— —, Recherches sur l'assimilation du nitrogène libre de l'atmosphère par les microbes. (Arch. des Sciences biol. St. Pétersb. Jahrg. III. 1895. p. 297—352.)

Allgemeine Gärungsphysiologie.

Andrusow, N., Ueber die schwefelwasserstoffhaltige Gärung im Schwarzen Meere. (Mémoires de l'Académie des sciences de St. Pétersb. 1895. Sér. VIII. Phys. math. Cl. I. No. 2.) [Russisch.]

Bau, Arminius, Entgegnung auf Prior's Mitteilung: „Sind die Hefen Saaz und Frohberg der Berliner Brauerei-Versuchsstation Hefetypen im physiologischen Sinne?" (Wochenschr. f. Brauerei. Jahrg. XII. 1895. No. 24. p. 549.)

Clautrian, G., Das Glykogen der Pilze und der Hefe. Belg. Akad. der Wissensch. Sitzung vom 6. April 1895. (Chemiker-Ztg. Jahrg. XIX. 1895. No. 39. p. 905.)

Smith, Th., Further observations on the fermentation tube with special reference to anaërobiosis, reduction and gas production. (Proc. of the Americ. Assoc. for the advance of Science. 42. Meet. held at Madison Wisc. 1893. Aug. Salem 1894. p. 261.)

Molkerei.

Bernstein, Alexander, Umwandlung des Kaseïns der Milch in Albumose und Peptone mittels einer Bakterie. (Deutsches Reichspatent No. 80451 v. 20. Mai 1894.)

Tiemann, H., Versuche über das Verbuttern von Rahm, der mit Milchsäure angesäuert wurde. (Milchztg. Jahrg. XXIV. 1895. No. 24. p. 383.)

Brauerei.

Doemens, A., Mikroskopische Größen und einiges über Infektionsgefahr etc. (Allgem. Braumeisterztg. Jahrg. II. 1895. No. 24.)

Fischer, Heinrich, Ueber den Einfluß sehr kalt und andererseits sehr warm geführter Hauptgärungen auf die Eigenschaften der Folgehefe. (Jahresber. der Versuchsstation in Mödling.)

Schönfeld, F., Ueber die Gärungs- und Nachgärungsverhältnisse, mit besonderer Berücksichtigung des thatsächlichen Auftretens von Infektion in den obergärigen Brauereien Nord- und Mitteldeutschlands. (Wochenschr. f. Brauerei. Jahrg. XII. 1895. No. 24. p. 546.)

Windisch, Wilhelm, Urteile aus der Fachpresse über die Delbrück'sche Abhandlung „Natürliche Hefenreinzucht" (Kritik). (Wochenschr. f. Brauerei. Jahrg. XII. 1895. No. 25. p. 569.)

— —, Die Reinhefenfrage auf dem Brüsseler „Internationalen Kongresse für angewandte Chemie". (Wochenschr. f. Brauerei. Jahrg. XII. 1895. No. 23. p. 525.)

Brennerei.

Clufs, Adolf, Die praktischen Erfolge der Arbeitsweise ohne Säuerungsprozeß mit nach Effront in Flußsäure akklimatisierter Hefe. (Zeitschr. f. Spiritusindustrie. Jahrg. XVIII. 1895. No. 21. p. 166.)

Scheibner, J., Milchsäure- oder Flußsäurehefe. (Zeitschr. f. Spiritusindustrie. Jahrg. XVIII. 1895. No. 25. p. 199.)

Schulz, D., Milchsäure- und Flußsäurehefe. (Alkohol. Jahrg. V. 1895. No. 24. p. 370.)

Wittelshöfer, P., Die Anwendung des neuen Effront'schen Verfahrens mit an Flußsäure akklimatisierter Hefe in der Brennerei zu Buir. (Zeitschr. f. Spiritusindustrie. Jahrg. XVIII. 1895. No. 25. p. 199.)
— —, Milchsäure- und Flußsäurehefe. (Zeitschr. f. Spiritusindustrie. Jahrg. XVIII. 1895. No. 23. p. 181.)

Prefshefefabrikation.

Hufs, Hefeversand für die Tropen. (Alkohol. Jahrg. V. 1895. No. 24. p. 373.)
— —, Hefesortierung in der Praxis. (Ibidem. p. 369.)

Weinbereitung.

Müller-Thurgau, Die Hefe als Kulturpflanze in den Weinbergen. (Wochenbl. d. Landwirtschaftl. Vereins im Großherzogtum Baden. 1894. p. 541.)

Zuckerfabrikation.

Rullmann, W., Chemisch-bakteriologische Untersuchungen von Zwischendeckenfüllungen mit besonderer Rücksicht von Cladothrix odorifera. gr. 8⁰. München (J. F. Lehmann) 1895. 1 M.

Nahrungs- und Genußmittel, Konserven etc.

Arnell, Knut, Ueber den Nachweis von Tuberkelbacillen in der Milch. (Kongl. landtbruksakademiens handlingar och tidskrift. 1894. p. 231—243.)
Basenau, F., Ueber die Ausscheidung von Bakterien durch die thätige Milchdrüse und über die sog. baktericiden Eigenschaften der Milch. (Arch. f. Hyg. Bd. XXIII. 1895. Heft 1. p. 44—86.)
Bonhoff, Untersuchungen über Giftbildung verschiedener Vibrionen in Hühnereiern. (Arch. f. Hyg. Bd. XXII. 1895. Heft 4. p. 351—391.)
— —, Eine Verpackung von flüssigen und halbflüssigen Nahrungsmitteln durch Sterilhaltung derselben nach Oeffnen der Gefäße. (Hygien. Rundschau. Jahrg. V. 1895. p. 301—304.)
Charrin, A., Note relative à la bacteriologie du lait. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1895. No. 4. p. 68—69.)
Dönitz, W., Ueber das Verhalten der Choleravibrionen im Hühnerei. (Zeitschr. f. Hyg. Jahrg. XX. 1895. p. 31.)
Donohue, F. O., The examination of the milk supply for tuberculosis in the state of New York. (Sanitarian. 1894. p. 486—492.)
Dubois, R., Sur la production de la phosphorescence de la viande par le „Photobacterium sacrophilum". (Revue mycol. 1895. p. 59.)
Duclaux, Les laits sterilisés. Revue critique. (Annales de l'Institut Pasteur. Jahrg. IX. 1895. No. 4.)
de **Freudenreich, E.**, Contribution à l'étude des causes de l'amertume des fromages et du lait. (Annales de micrographie. 1895. No. 1. p. 1—14.)
Hinrichsen, Weitere Bemerkungen über das Vorkommen von Oestruslarven im Rückenmarkskanale des Rindes und über die Beurteilung des hier vorhandenen Fettes in sanitätspolizeilicher Beziehung. (Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhygiene. 1894/95. Heft 6. p. 106—107.)
Jolles, Max und **Winkler, Ferdinand**, Bakteriologische Studien über Margarin und Margarinprodukte. (Zeitschr. f. Hyg. Jahrg. XX. 1895. p. 60.)
Krüger, R., Maßregeln zur Beseitigung einiger Mißstände bei der Untersuchung von Milch, welche mit Kaliumbichromat konserviert wurde, und die Brauchbarkeit des Formalins zu Milchkonservierungszwecken. (Vierteljahrsschr. Fortschritte Chem. Nahrungsmittel. Jahrg. IX. 1895. p. 504.)
di **Mattei, E.**, Contributo allo studio della virulenza delle spore del carbonchio sintomatico nelle carni infette e loro resistenza agli agenti fisici e chimici. (Annali d. ist. d'igiene sperim. d. r. univ. di Roma. Vol. IV. 1894. Fasc. 4. p. 497—523.)
Noack, C. und **Mejer, H.**, Seltene Finnenbefunde beim Rinde. (Deutsche tierärztliche Wochenschr. 1895. No. 8. p. 64—65.)
Schmalz, Die amtliche Tabelle der Betriebsresultate der preußischen Schlachthäuser April 1893/94 und ihre statistische Verwertung. (Berl. tierärztl. Wochenschr. 1895. No. 4. p. 37—41.)

Schrank, S., Bakteriologische Untersuchung fauler Kalkeier. (Zeitschr. d. Oesterreich. Apoth.-Vereins. Jahrg. XXXIII. 1895. p. 395.)
Sterling, S., Przyczynek do bakteriologij mleka. (Zdrowie. 1895. No. 114. p. 86—92.)
Trouessart, Les parasites des habitations humaines et des denrées alimentaires ou commerciales. 12°. Paris (Gauthier-Villars & fils) 1895. 2,50 frcs.
Weigle, Th. und **Merkel, S.**, Die Einwirkung des Formalins auf Nahrungsmittel. (Forschungsberichte über Lebensmittel und ihre Beziehung zur Hygiene. 1895. p 91—94.)

Luft.

Hest, J. J. van, Bakterienluftfilter und Bakterienluftfilterverschluß. gr. 8°. 32 p. mit Abbildgn. Jena (G. Fischer) 1895. 0,80 M.
Miquel, P., Sur un procédé simple applicable à l'analyse bactériologique de l'air. (Annales de micrographie. 1895. No. 3. p. 103—109.)

Wasser.

Clussel, E., De l'influence de la tempèrature dans l'analyse bactériologique des eaux. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1895. No. 3. p. 58—59.)
Fischer, Das Sandplattenfilter und seine Anwendung zur centralen Wasserversorgung der Stadt. (Hygienische Rundschau. Jahrg. V. 1895. p. 334—348.)
Frankland, P. F., and **Applegard, J. R.**, The behaviour of the typhoid bacillus and of the bacillus coli communis in potable water. (Proceed. of the Royal soc. of London. 1894. p. 395—556.)
Kutscher, Die während des Herbstes 1894 in den Gewässern Gießens gefundenen Vibrionen. (Zeitschr. f. Hygien. Bd. XIX. 1895. Heft 3. p. 393—407.)

Boden.

Ferry, R., Sur le Production de l'ammoniaque dans le sol par les microbes d'après M. E. Marchal. (Revue Mycol. 1895. p. 64.)
— —, Le ferment nitrique d'après M. Winogradsky. (Loc. cit. p. 67.)
Salfeld, Die Wirkung von Lehm aus dem Untergrunde und von Seeschlick und die Knöllchenbakterien der Leguminosen. (Deutsche Landwirtschaftl. Presse. Jahrg. XXII. 1895. No. 45.)

Düngung.

Kutscher, Die Vibrionen- und Spirillenflora der Düngerjauche. (Zeitschr. f. Hygiene. Jahrg. XX. 1895. p. 46.)
Stutzer, A., Bakterien des Düngers und des Bodens. (Deutsche Landwirtschaftl. Presse. Jahrg. XXII. 1895. No. 41. p. 385.)

Durch Parasiten verursachte Krankheiten der Pflanzen.

Bessey, C. E., The homologies of the Uredineae. (American Naturalist. Jahrg. XXVIII. 1894. p. 989—996.)
Brizi, U., Ricerche sulla brunissure o annerimento delle foglie della vite. (Nuov. Giorn. Bot. Ital. 1895. p. 118.)
Cobb, N. A., Notes on diseases of plants. (Agl. Gaz. N. S. W. 1894. June. p. 379—390. With 15 figs.)
— —, A new Australian fungus. (Loc. cit. p. 390. With 1 fig.)
Cockerell, T. D. A., A new scale insect found on plum. (Canadian Ent. Vol. XXVII. 1895. No. 1. p. 16—19.)
Dietel, P., New species of Uredineae and Ustilagineae, with notes on other species, II. (Bot. Gaz. Jahrg. XIX. 1894. No. 8. p. 303—306. pl. 1.)
— —, New Californian Uredineae, II. (Erythea. Jahrg. II. 1894. No. 8. p. 127—129.)
— —, Ueber Uredineen, deren Aecidien die Fähigkeit haben, sich selbst zu reproduzieren. (Verhandl. d. Ges. deutsch. Naturforscher und Aerzte. 66. Vers. zu Wien. 1894. p. 169. [1895.])
Dietel, P., New North American Uredineae. (Erythea 1895. p. 77.)
— —, Bemerkungen über einige Rostpilze. (Mitt. d. Thüring. Botan. Verein. Neue Folge. Heft V. 1894. p. 45.)

Duggar, B. M., Variability in the spores of Uredo polypodii. (Proc. Amer. Acad. Jahrg. 1894. p. 396—400. With 15 figs)
Frank, Neue Mitteilungen über Phoma betae. (Der Landwirt. Jahrg. XXXI. 1895. No. 4. p. 277.)
Galloway, B. T., Observations on a rust affecting the leaves of the Jersey or Scrub Pine. (Proc. of the Americ. Assoc. for the Advanc. of Science. 42. Meet. held at Madison Wisc. Aug. 1893. Salem 1894. p. 262.)
— —, Results of some recent works on Rust of Wheat. (Loc. cit. p. 262.)
Géneau de Lamarlière., Aureobasidium Vitis. (Rev. mycol. 1895. p. 54.c. tab.)
Greaves, C. W. H., Apple canker. (Gard. Chron. Jahrg. XVII. 1895. Ser. IV. p. 72.)
Halsted, B. D., Blight of garden pinks. (Amer. Florist. Jahrg. X. 1894. p. 5.)
— —, Begonia diseases. (Loc. cit. p. 117.)
— —, Notes on Uromyces cladii. (Torrey Bul. Jahrg. XXI. 1894. p. 311—313.)
Hitchcook, A. S., and **Carleton, M. A.**, Second report on rusts of grain S. Kansas Sta. Bul. 46. p. 9.)
Jacobusch, E., Der Schneepilz, Lanosa nivalis, als Ursache des Auswinterns des Getreides und des Rasens. (Gartenflora. 1895. p. 224.)
Leaf spot of orchids. (Gardeners chronicle. Jahrg. XVII. 1895. Ser. III. p. 70—71.)
Leclerc du Sablon, Sur une maladie du Platane. (Revue mycol. 1895. p. 57. c. tab.)
Legislation against plant pest. (Garden and Forest. Jahrg. VIII. 1895. p. 41—42.)
Massee, G., An onion disease. (Gard. Chron. Jahrg. XVI. 1894. Ser. III. p. 160. With 1 fig.)
— —, Diseases of the grape. (Loc. cit. p. 75. With 2 figs.)
— —, Diseases of the vine (Cont.). (Gard. Chronicle. Jahrg. XVII. 1895. Ser. III. p. 134.)
— —, Note on the disease of Cabbages and allied Plants known as „Finger and Toe“. (Proceedings of the Soyal Society London. Vol. LVII. 1895. p. 330.)
Pammel, L. H., Powdery mildew of the apple. (Proc. of the Jowa Acad. of Sc. I. 1894. p. 92.)
— —, Notes on a few Common fungus Diseases. (Jowa Agric. Coll. Experim. Stat., Ames. Bull. No. 23. 1894. p. 918.)
Piffard, B., Vine leaf clubbing. (Gard. Chron. Jahrg. XVI. 1894. Ser. III. p. 136.)
Plowright, C. B., Puccinia ribis. (Gard. Chron. Jahrg. XVI. 1894. Ser. III. p. 135.)
Powell, G. H., Quince rot. (Garden and Forest. Jahrg. VII. 1894. p. 337.)
Report of botanist and entomologist. (Florida Sta. Bul. No. 24. 1895. p. 16—19. With 1 fig.)
Rolfs, P. A., A Sclerotium Disease of Plants. (Proc. of the Americ. Assoc. for the advanc. of Science. 42. Meet. held at Madison Wisc. Aug. 1893. Salem 1894. p. 260.)
Rust in wheat. (Proc. Rust in Wheat Conf., Brisbane, Queensland. 1894. p. 77.)
Sasaki, C., The scale insect of mulberry trees. With 2 pl. (College of Agr. Tokyo. Japan Bul. Vol. II. No. 3. p. 107—124.)
Sasse, Ueber Herz- und Trockenfäule der Rüben. (Oesterreichische Zeitschr. f. Zuckerindustrie. Jahrg. XXIV. 1895. p. 385.)
Schwarz, F., Die Erkrankung der Kiefern durch Cenangium Abietis. Beitrag zur Geschichte einer Pilzepidemie. Jena (G. Fischer) 1895. c. tab. 2. 5 M.
Smith, J. B., Some insects injurious to shade trees. (New Yersey Stas. Bul. No. 103. 1895. p. 15. With 4 figs.)
Smith, E. F., Two new and destructive diseases of Cucurbits. 1) The Muskmelon Alternaria. 2) A bacterial disease of Cucumbers, Chanta loupes and Squashes. (Proc. of the Americ. Assoc. for the Advanc. of Science. 42. Meet. held at Madison Wisc. Aug. 1893. Salem 1894. p. 258.)
Sommerville, W., An infection experiment with club root of turnips (finger and toe disease). (Journ. of Roy. Agl. Soc. England. Ser III. Jahrg. V. 1894. No. 20. p. 808—811. With 1 fig.)
Sorauer, Ueber bakteriöse Gummosis der Rüben. (Oesterr. Zeitschr. f. Zuckerindustrie. Jahrg. XXIV. 1895. p. 386.)
Stedman, J. M., Cotton-boll rot. (Alabama Stas. Bul. No. 55. 1895. p. 12. pl. 1.)
Stedmann, J. A., A new disease of cotton. Cotton boll-rot. (Agr. Exp. Stat. of the Agric. and Mechan. College, Auburn. Alab. 1894. Bull. No. 55. c. tab.)
Stuart, W., Carnation rust experiments. (Americ. Florist. Jahrg. IX. 1894. p. 1231. 1232.)

Sturgis, W. C., A provisional bibliography of the more important works published by the U. S. Dep. of Agric. and the Agric. Experim. Stat. of the U. S. from 1886 to 1893 inclusive, on fungous and bacterial diseases of economic plants. (The Connectic. Agric. Exp. Stat. Bull. No. 118. 1894.)

— —, Fire blight, Micrococcus amylovorus Burr. (18. Ann. Rep. of the Connect. Agr. Exp. Stat. for 1894. Pt. II. p. 113.)

— —, Scab upon Turnips. (10. Ann. Rep. of the Connect. Agr. Exp. Stat. 1894. Pt. II. p. 126. c. tab.)

Swingle, W. T., The principal diseases of Citrons fruits now being studied at Eustis Florida. (Proc. of the Americ. Assoc. for the advancing of Science. 42. Meet. held at Madison Wisc. Aug. 1890. Salem 1894. p. 260.)

Taft, L. R., Lettuce mildew. (Amer. Gard. Jahrg. XV. 1894. No. 21. p. 375.)

Taft, L. R. and **Coryell, R. J.**, Leaf blight of potato. (Michigan Sta. Bul. No. 108. 1895. p. 47.)

The potato disease. (Gard. Chron. Jahrg. XVI. 1894. Ser. III. p. 132.

Tracy, S. M. and **Earle, F. S.**, New species of parasitic Fungi. (Bull. Torr. Bot. Cl. 1895. p. 174.)

van Bambeke, Ch., Note sur une forme monstrueuse de Ganoderma lucidum Leys. (Dodonaea. Bd. VII. 1895. p. 94.)

Wallace, A., Iris and lily disease. (Gard. Chron. Jahrg. XVI. 1894. Ser. III. p. 221.)

Wigley, H., Aecidium asperfolii. (Gardeners Chronicle. Jahrg. XVI. 1894. Ser. III. p. 222.)

Worinin, M., Die Sklerotienkrankheit der gemeinen Traubenkirsche und der Eberesche. (Mém. de l'Acad. Imp. des Aciences de St. Pétersbourg. Sér. VIII. Bd. II. 1895. No. 1. c. tab. 5.)

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Ibanow, K. M., Ein Versuch von quantitativer Bestimmung der Bakterien in dem Wasser des Flusses Angora bei Irkutsk. (Wratsch. Jahrg. XVI. 1895. p. 245.) [Russisch].

Neisser, Max, Die mikroskopische Plattenzählung und ihre spezielle Anwendung auf die Zählung der Wasserplatten. (Zeitschr. f. Hygiene. Jahrg. XX. 1895. p. 119.)

Whipple, G. C., A standard unit of size for micro-organisms. (Amer. monthly microsc. Journ. 1894. p. 377—381.)

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien.

Baginsky, Adolf, Noch einige Bemerkungen zur Frage der Kuhmilchnahrung und Milchsterilisierung. (Berl. klin. Wchschr. Jahrg. XXXII. 1895. p. 384.)

Bolton, M., The effects of various metals of the growth of certain bacteria. (Internat. med. magaz. 1894/95. p. 812—822.)

Burdet, G., Etude sur les propriétés thérapeutique et désinfectantes de la formaldehyde ou formol. (Bull. et génér. de thérapeut. 1895. No. 14. p. 293—308.)

Jansens, E., La désinfection par le sublimé. (Mouvement hygién. 1895. No. 3/4. p. 111—112.)

Jones, L. R., Bordeaux mixture as a deterrent against flea beetles. (Agl. Sci. Jahrg. VIII. 1894. No. 6—9. p. 364—367.)

Spraying Pear and Apple Orchards in 1894. (New York Agric. Exper. Stat. Geneva. Bull. No. 84. Jan. 1895. p. 3.)

Treatment of common diseases and Insects injurious to fruits and vegetables. (New York Agric. Exp. Stat. Geneva. Bull. No. 86. Febr. 1895. p. 68. c. fig.)

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.



für

Bakteriologie und Parasitenkunde.

Zweite Abteilung:

Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie und Pflanzenpathologie.

In Verbindung mit

Prof. Dr. **Adametz** in Krakau, Dr. W. M. **Beyerinck** in Delft, Prof. Dr. **A. B. Frank** in Berlin, Dr. **v. Freudenreich** in Bern, Prof. Dr. **Emil Chr. Hansen** in Kopenhagen, Dr. **Lindner** in Berlin, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Dr. **Erwin F. Smith** in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. **Stutzer** in Bonn, Privatdocent Dr. **Wehmer** in Hannover, Dr. **Weigmann** in Kiel, Dr. **Wilfarth** in Bernburg und Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg.

herausgegeben von

Dr. O. Uhlworm in Cassel.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

I. Band. | **Jena**, den 10. August 1895. | **No. 15/16.**

Preis für den Band (26 Nummern) 16 Mark.

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde" richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige ***Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.***

Original-Mittheilungen.

Ueber Hefe und Schimmelpilze an den Trauben.

[Mitteilung aus dem chem. und gärungsphysiolog. Laboratorium in Ludwigshafen a. Rh.]

Von

Dr. **Hugo Eckenroth** und **R. Heimann.**

Mit 6 Figuren.

In No. 9 dieser Zeitschrift veröffentlichte Herr Alfred Jörgensen eine interessante Abhandlung über den Ursprung der Weinhefen. Das Interesse, welches man diesem Thema entgegenbringt, ist

wohl auch die Ursache, daß viele Gelehrte sich seit langer Zeit mit der Abstammung der Saccharomyceten beschäftigen, es sind jedoch alte Ideen, welche hauptsächlich durch Juhler's Aspergillus-hefeuntersuchungen aufs neue in Fluß geraten sind.

Schon E. Laurent zeigte in seiner ausführlichen Arbeit: Recherches sur le polymorphisme du Cladosporum herbarum (Annales de l'Institut Pasteur. 1888) die Metamorphosen von Cladosporium herbarum, Penicill. cladosporioides, Dematium und Fumago unter Bildung von weißen und roten Hefezellen.

In den Mitteilungen des Carlsberger Laboratoriums (Bd. I. 1882. Heft 4. p. 214) beschreibt Hansen ein Dematium, dessen Hefezellen Alkoholgärung produzierten; sonst glaubte man, Dematium sei kein Gärungserreger.

Cuboni hat in jüngster Zeit ganz besonders betont, daß die Saccharomyceten von Cladosporium und Dematium abstammen.

Durch merkwürdige Umstände mit dieser Frage ebenfalls verknüpft, gelangten wir durch unsere gärungsphysiologischen Untersuchungen zu der Ueberzeugung, daß die Schimmelpilze eine eigentümliche Metamorphose an den Trauben durchzumachen haben.

Nach unseren Beobachtungen im Herbste 1894 steht die Entstehung und Entwickelung der Hefen in innigem Zusammenhange mit den Schimmelpilzen, und dürfte dieser Zusammenhang jedenfalls an den Trauben selbst zu suchen sein.

Unsere ersten Beobachtungen darüber sind in den Weinbergen direkt gemacht worden; auch verdienen dieselben insoweit ein besonderes Interesse, als sie einen der bekanntesten Schimmelpilze betreffen, nämlich Penicillium; er war das Ausgangsmaterial vorliegender Arbeit.

Als besonders günstig für die Beobachtung dieser Erscheinungen dürfte vielleicht der Umstand zu verzeichnen sein, daß im Herbste 1894 an vielen Orten Deutschlands, besonders aber hier in der Pfalz, die Trauben des vielen Regens und der früh eingetretenen Kälte wegen kaum zur Reife kamen, dagegen fast alle nahezu von Schimmelpilzen bedeckt waren. Um diese Zeit erhielten wir zahlreiche Proben von Trauben aus allen Weinorten der Pfalz zur Untersuchung, und u. a. auch von Schloß Kupperwolf bei Edesheim (Gemarkung Edenkoben) eine Probe Trauben, welche fast alle mit Schimmel bedeckt und von Oïdium Tuckeri mehr oder minder gesprengt waren.

Bei der mikroskopischen Untersuchung ergab sich, daß diese Traubenbeeren, trotzdem sie auch noch ziemlich hart und unreif waren, einen ganzen Ueberzug hefeähnlicher Zellen besaßen.

Um nun diese hefeähnlichen Zellen näher zu untersuchen, wurden in bekannter Weise Mostgelatineplatten gemacht und dieselben darauf zur Entwickelung gebracht.

Statt nun, wie wir erwartet hatten, Hefekolonieen zu erhalten, bildeten sich im Verlaufe einiger Tage schwach rosa gefärbte Kolonieen, welche nach ca. 2—3 Wochen an Farbe bedeutend zunahmen, bis sie zuletzt vollkommen rot gefärbt erschienen.

Das mikroskopische Bild ergab kleine, torulaähnliche Zellen.

Diese kleinen Torulazellen wurden nun in Freudenreichsche Kolben, welche mit sterilisiertem Moste gefüllt waren, ausgesät; statt nun hier wieder eine Torulavegetation zu bekommen, entwickelte sich nach einigen Wochen ein ganz merkwürdiges Mycelium. Die einzelnen ursprünglichen Torulazellen waren in der Flüssigkeit nicht mehr vorhanden, dagegen konnten sie als Ausgangspunkt der Myceliumvegetation noch deutlich erkannt werden. Das Mycelium selbst bildete eine verzweigte, dematiumähnliche Vegetation. (Fig. 1.)

Es wurden sofort davon mehrere feuchte Kammern gemacht und die Kolben dann einige Wochen der Ruhe überlassen.

Das Mycelium verbreitete sich dabei außerordentlich stark und die Flüssigkeit wurde ganz schleimig [1]). Bei der mikroskopischen Untersuchung zeigten sich jetzt die Kolben voll sprossender Zellen; das Mycelium hatte sich insofern verändert, als an zahlreichen Orten riesige Anschwellungen erschienen waren. (Fig. 2.)

Wird dagegen ein myceliumhaltiger Kolben stark geschüttelt, so daß Luftblasen etwas Mycelium an die Oberfläche führen, so findet hier nach kurzer Zeit eine grüne Konidienabschnürung statt; dieselbe Erscheinung tritt zu Tage, wenn sich das Mycelium so verbreitet, daß es an die Oberfläche der Flüssigkeit und in Berührung mit Luft kommt.

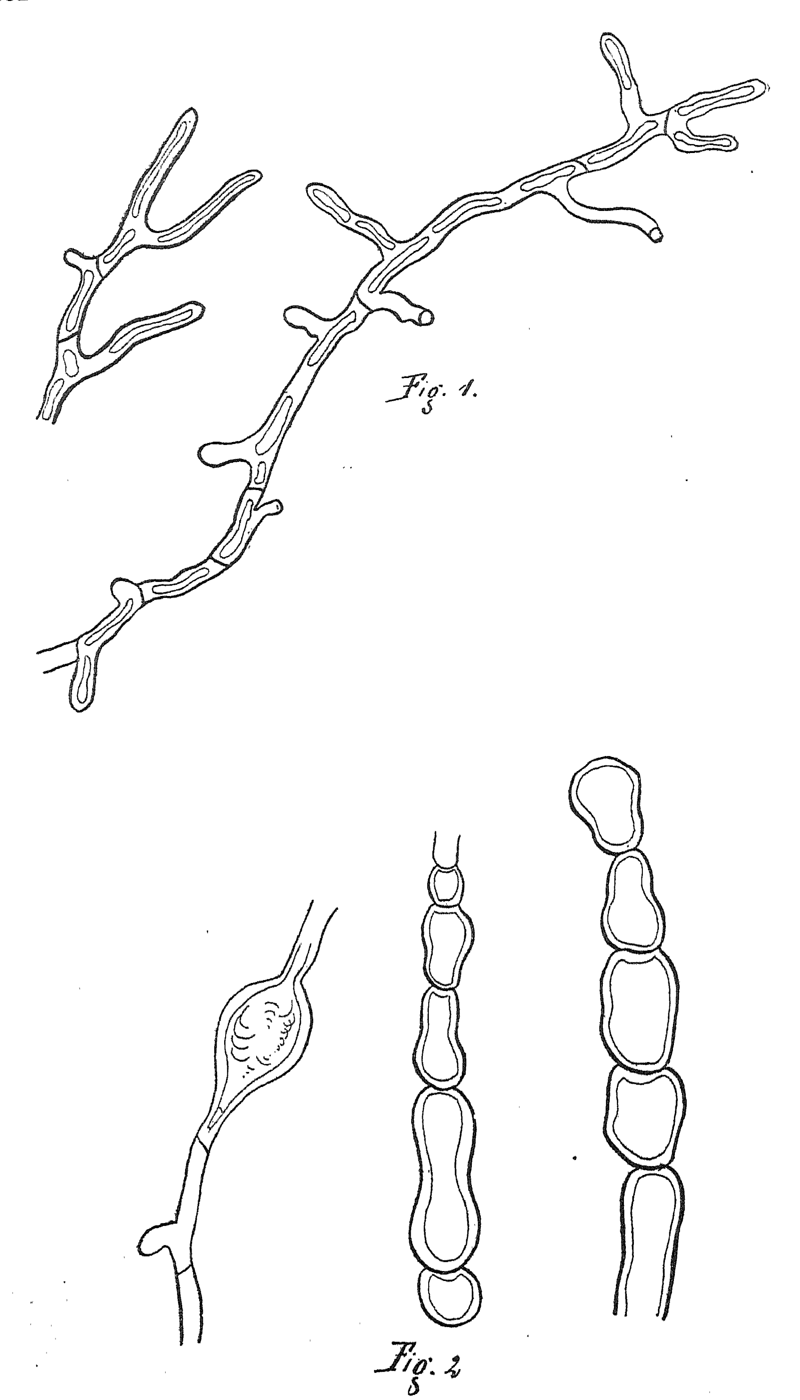
In den feuchten Kammern konnten wir von Stunde zu Stunde die ganze Entwickelung verfolgen. Es werden zuerst die hefeähnlichen Zellen von den Myceliumästen selbst abgeschnürt; diese abgeschnürten Zellen sprossen, manchmal in verschiedenen Formen, im hängenden Tropfen sehr rasch; die Abschnürung fängt nach 18 Stunden bei 25° C an.

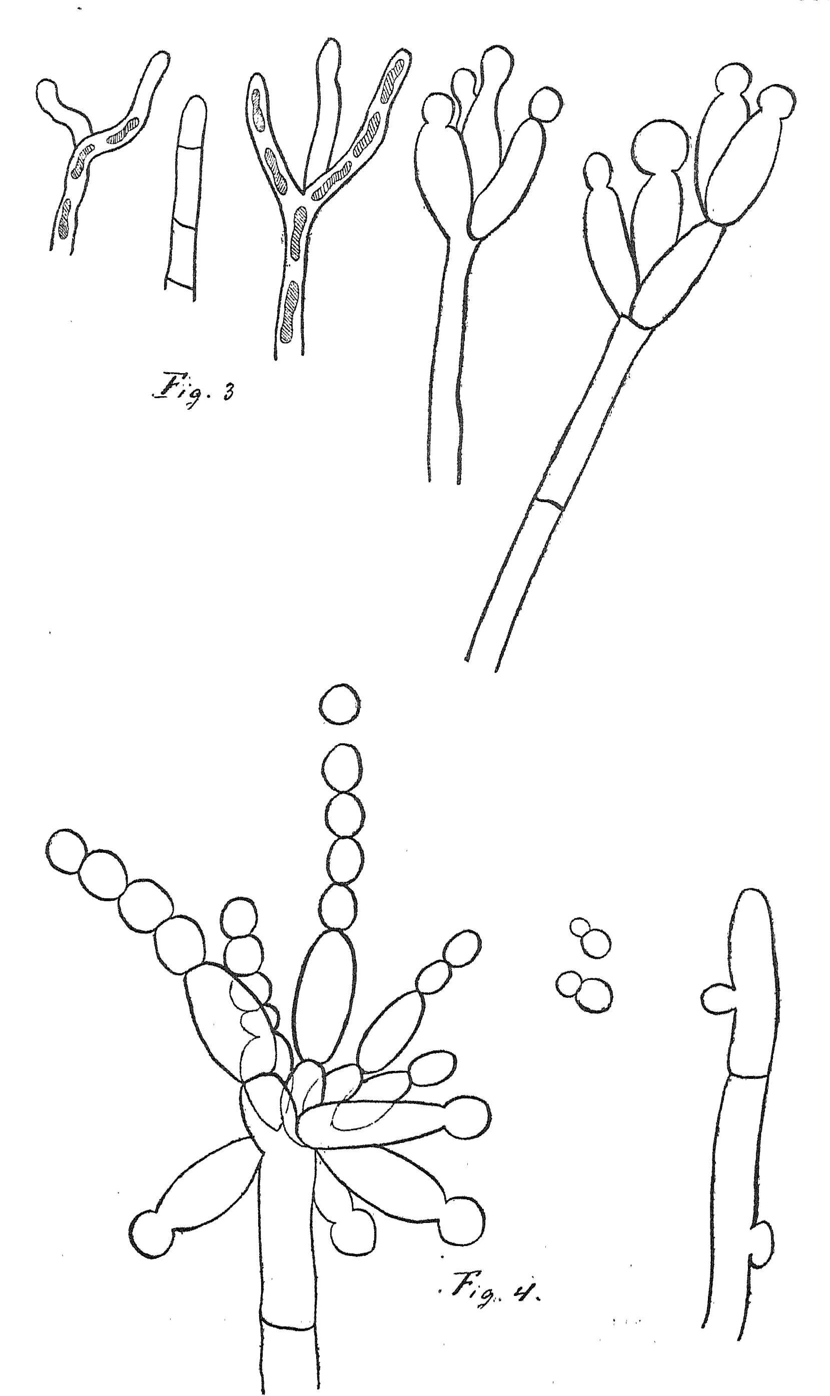
Nach und nach verbreitet sich das Mycelium, und wenn einige Aeste an die Oberfläche des Tropfens kommen, fangen diese an, sich gabelförmig zu teilen, Sterigmen zu bilden und nicht besonders reichlich Konidien abzuschnüren (Fig. 3 u. 4); nach 24 Stunden ist diese Konidienabschnürung in vollem Gange, und von jetzt ab wird die erste hefeähnliche Zellenabschnürung ganz zurückgedrängt.

Von dem ersten hefeähnliche Zellen abschnürenden Stadium wurden vorsichtig im Infektionskasten einige der sprossenden Zellen herausgenommen und in 3 Freudenreich-Kolben 1) mit Most, 2) Rosinendekokt und 3) Bierwürze übergeführt und in dem Thermostaten bei 25° kultiviert.

Nach Verlauf von 4 Tagen wurden die drei Kolben näher untersucht; der Most enthaltende Kolben zeigte jetzt einen Bodensatz, welcher sowohl aus hefe- als torulaähnlichen Zellen bestand; der mit Rosinendekokt gefüllte Kolben ergab dieselbe Erscheinung, aber

1) P. Lindner hat an der Berliner Station für Brauerei vor einigen Jahren eine Dematiumart entdeckt, welche durch ihre Vegetation die Bierwürze ganz schleimig machte; es ist leicht möglich, daß dies dieselbe Art war, wie die oben geschilderte.


Fig. 1.
Fig. 2


Fig. 3
Fig. 4.

gleichzeitig auch eine beginnende Schimmelvegetation. Der dritte Kolben mit Würze zeigte nur eine Vermehrung der „Hefe"-Zellen und ein wenig Torulazellen.

Von diesem letzten Kolben wurde jetzt eine gewöhnliche Plattenkultur und eine große feuchte Kammer zur Reinkultur gemacht.

Nach Verlauf von 4 Tagen hatten sich 14 Kolonieen in der Kammer gebildet, 6 rote und 8 weiße.

Von je 6 Kolonieen wurden 3 in Most und 3 in Würze übergeführt und in den Thermostaten bei 25 ° C gebracht.

Nach 8 Tagen wurden die Kolben untersucht; sämtliche Kolben zeigten reichlichen Bodensatz von beiden Arten und eine Hauterscheinung. Bei den Kolben, welche Zellen der weißen Kolonieen enthielten, konnte deutliche Gärung beobachtet werden.

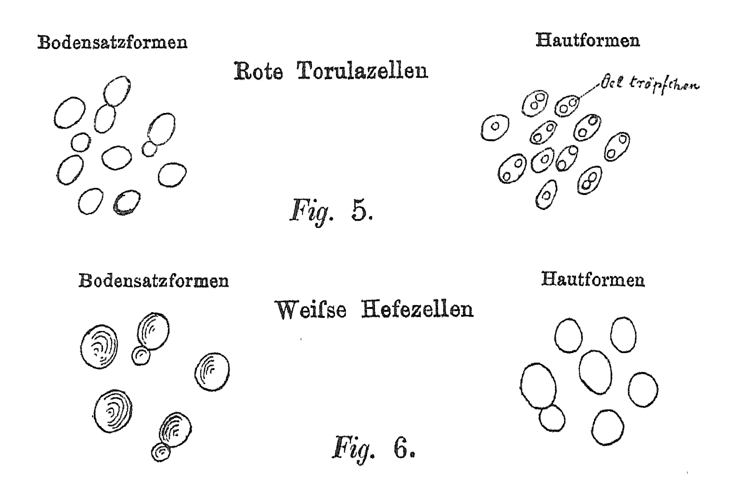


Fig. 5.

Fig. 6.

Die weißen Hefezellen waren kugelrund, 6—7 μ, und zeigten starke Hautbildung (Fig. 6). Die rote Torula dagegen war ellipsoid, 4—5 μ, mit einer schwachen, schönen, karmoisinroten Haut. Die einzelnen Zellen (s) hatten Aehnlichkeit mit Mycoderma und enthielten ein bis zwei Fettkugeln (Fig. 5). Nach Verlauf von einigen Monaten hatte sich besonders die Hautbildung verändert.

Die zwei erwähnten Arten sprossender Zellen wurden nun in verschiedene Nährflüssigkeiten übergeführt, am besten zeigte sich stets Würze für die Entwickelung der Zellen. Die weißen Hefezellen brachten immer eine deutliche Gärung hervor, erteilten aber der Würze einen sehr unangenehmen Geruch und Geschmack.

Sporen konnten von uns nicht beobachtet werden. Die bezüglichen Versuche wurden auf gewöhnlichen Gipsblöckchen ausgeführt; da bei diesen Kulturen keine Sporenbildung zu beobachten war, ist auch keine Wahrscheinlichkeit vorhanden, daß die betreffenden Hefezellen überhaupt Sporen bilden können.

Die rote Vegetation brachte absolut keine Gärung hervor, ver-

mehrte sich aber reichlich; überhaupt bildeten die beiden Arten ungewöhnlich starken Bodensatz.

Die gleichzeitig mit der Reinkultur gemachte Gelatineplatte zeigte ebenfalls Entwickelung von weißen und roten Kolonieen in gleicher Zahl; die weißen waren ungefähr $^2/_3$mal größer als die roten. Einige weiße Kolonieen waren besonders groß und bildeten nach 14 Tagen merkwürdige Ausstrahlungen, ein Phänomen, das wir als eine Tendenz der Zellen, sich mycelartig zu verbreiten, auffassen müssen.

Unsere Most-Gelatineplatten entsprachen bezüglich der Zusammensetzung den Trauben annäherud und entwickelte sich unser beobachtetes Penicillium in allen seinen Variationen überhaupt nur an und in sauren Substraten.

Es erscheint notwendig, die ganze Entwickelung dieser Pilze an den Trauben selbst zu verfolgen und zu studieren, da es sich gezeigt hat, daß durch viele Umpflanzungen derselben die Neigung vorhanden ist, in gewöhnliche Schimmelvegetationen zurückzugehen und das Vermögen, Hefe- und Torulazellen zu bilden, nach und nach gänzlich verschwindet.

Dagegen wiederhohlt sich an den Trauben stets die ganze Metamorphose unter der scheinbaren Bedingung, von der Anwesenheit vieler Feuchtigkeit abhängig zu sein.

Unsere Arbeit ist selbstverständlich noch nicht vollkommen durchgeführt und abgeschlossen; wir behalten uns vor, darüber später weiter zu berichten.

Die wichtigste Abhandlung für vorliegende Untersuchung ist diejenige von Laurent und fanden wir in den meisten Punkten dieselben Resultate wie Laurent. Während die Cladosporiumform von uns nicht beobachtet wurde, ist dagegen unser Penicillium offenbar eine andere Species, als die von Laurent unter dem Namen Penicillium cladosporioides beschriebene, und bildet wahrscheinlich eine ganz neue Species. Auch Laurent beobachtete sowohl rote wie weiße Hefezellen, welche er als zur Formgruppe von Pasteur's Torula gehörend auffaßt und die eine schwache Alkoholgärung erzeugt; die rote Farbe kann seiner Mitteilung zufolge nur mittels Insolation hervorgebracht worden sein.

Unsere Hefezellen gaben wohl eine etwas stärkere Gärung, und zeigte sich die rote Farbe ohne besondere Einwirkung des Sonnenlichtes.

Von Jörgensen's Beobachtung differiert unsere Arbeit namentlich dadurch, daß keine Endosporenbildung auftrat, also nach der Auffassung von Reess kein Saccharomyces vorliegt.

Die Entstehung der Alkoholgärungshefen aus Schimmelpilzen scheint für die Zymotechnik von hoher Bedeutung werden zu können, namentlich falls es gelingen sollte, die Hefezellen zu ihren etwaigen Schimmelpilzformen zurückzuführen. Unter diesen Umständen hätten wir Aussicht, neue Hilfsmerkmale bei der schwierigen Analyse der Hefen zu bekommen. Hansen hat schon längst die Aufmerksamkeit auf diese wichtige Aufgabe gelenkt und hat selbst den Anfang dazu gemacht.

Er hat nachgewiesen, in welcher Weise die im Sinne Reess' als echte Saccharomyceten aufzufassenden Hefezellen oïdium- und dematiumartige Ausbildungen hervorbringen können (vide Carlsberger Mitteilungen. Bd. II. Heft 4. 1886, besonders die Tafeln, sowie seine Abbildungen von Saccharom. Ludwigii in Zopf's Handbuch der Pilze. p. 703.)

Ueber Antennaria scoriadea Berk.

Von

Dr. F. W. Neger

in

Concepcion, Chile.

Mit 1 Tafel.

In dem grundlegenden Werke über die Flora von Chile: Cl. Gay, Historia fisica i politica de Chile, seccion Botanica wird im Bd. VII. p. 495 unter Hinweis auf Berkeley, Crypt. antarct. p. 63 tab. 67. fig. 3 ein Pilz obigen Namens beschrieben, welcher meiner Ansicht nach zu den häufigsten kryptogamen Parasiten Chiles gehört. Er hält sich mit Vorliebe auf den folgenden 3 Pflanzen auf: Eugenia raran Colla, Baccharis concava D.C. und Boldoa fragrans Gay, zuweilen auch auf Eugenia planipes Hook. und anderen Eugenien und geht überhaupt gern auf benachbart stehende Sträucher und Bäume über, auf welchen er dann freilich nicht zu voller Entwickelung gelangt. Diese Pflanzen erscheinen oft dicht überzogen von einer dicken, schwarzen, leicht sich ablösenden Kruste, welche aus einem unentwirrbaren Geflecht unzähliger Mycelfäden (von sehr verschiedener Form) bestehen. Am meisten in das Auge fallend sind die Konidienträger, besonders dann, wenn die Konidien schon abgefallen sind. Immer dem unbewaffneten Auge sichtbar, haben sie in der Jugend eine Länge von 5—10 mm, können aber im Laufe der Zeit eine Höhe von über 5 cm erreichen. Ich sah oftmals in den ewig feuchten Walddickichten der Halbinsel Tumbez, daß ganze Bäume von dem genannten Pilze überwuchert waren. Diese Sporenträger werden bei Gay (l. c.) schon beschrieben und ihre Gestalt verglichen mit Hypnum abietinum. Am Schlusse wird die Bemerkung hinzugefügt, der gleiche Pilz finde sich in Australien und auf den Aucklandsinseln (südlich von Neuseeland). Leider ist mir die citierte Abhandlung Berkeley's, welche vielleicht nähere Details enthielt[1]), nicht zugänglich.

Ebenso weiß ich nicht, ob der in Australien und auf den Aucklandsinseln gefundene Pilz auf seine Identität mit dem in Rede stehenden chilenischen eingehend geprüft worden ist. Vielleicht liegt

1) Es ist bei Gay in vielen Fällen nötig, auf die Quellen zurückzugehen, eine Erfahrung, welche R. A. Philippi sehr oft gemacht hat.

hier nur eine oberflächliche Beobachtung vor, ähnlich der — wahrscheinlich unrichtigen — Meyen's, welcher behauptet, Capnodium salicinum in Chile gesehen zu haben. Mir wenigstens ist dieser Pilz bis jetzt noch nicht zu Gesicht gekommen, obwohl ich schon den ganzen Süden Chiles bereist habe.

Von Fruktifikationsorganen erwähnt Gay nur Anschwellungen einzelner Glieder der Mycelfäden. Durch längere Beobachtung ist es mir gelungen, die Fortpflanzungsverhältnisse dieses Pilzes zu ermitteln, und zwar beobachtete ich außer den Sporenträgern 4 Formen von geschlossenen Fruchtkörpern, nämlich zweierlei Arten von Spermogonien, Pykniden und Perithecien. In Bezug auf das vegetative Mycel wüßte ich den bei Gay gegebenen Ausführungen nichts Neues hinzuzufügen.

1) Sporenträger.

Was Gay von tannenartig verzweigten Sporenträgern sagt, bezieht sich offenbar auf Individuen, welche entweder schon abgestorben waren oder wenigstens die Periode der Konidienabschnürung längst hinter sich hatten.

Im jugendlichen Zustande sind diese Sporenträger nämlich nicht verzweigt, sondern haben eine mehr pfriemenartige Gestalt, mit nur vereinzelten seitlich stehenden Mycelästen.

Beobachtet man einen Sporenträger unter dem Mikroskope in Glycerin, so sieht man, daß er aus einer großen Anzahl fadenförmiger Hyphen besteht, welche sich zu einem nach oben verjüngten säulenähnlichen Stroma zusammengeschlossen haben. Giebt man jetzt nach dem Abspülen des Glycerins etwas Kalilauge in das Präparat und drückt schwach auf das Deckglas, so bemerkt man, daß sich im oberen Teile der Säule eine Unzahl von gekrümmten Sporen loslöst, welche den Mycelfäden armleuchterartig angeheftet sind (A 1).

In der freien Natur spielt sich der Vorgang der Sporenablösung und -verbreitung folgendermaßen ab:

Sowie die Sporen reif sind, weichen die bündelartig beisammenstehenden Zweige des sporentragenden Stromas auseinander; auf diese Weise werden die Sporen, welche sehr locker mit der zugehörigen Sporenmutterzelle verbunden sind, der Einwirkung des Windes preisgegeben und können von diesem weit weg geführt werden. Thatsächlich ist die räumliche Verbreitung des Pilzes ziemlich groß. Ich sah ihn in allen Breiten vom 36.°—42.° s. B. und zweifle nicht, daß er noch weiter südlich, etwa an der Magellanesstraße vorkommt. Da seine eigentliche Heimat feuchte Waldstellen sind, so dürfte er sich kaum über den 36.° s. B. nach Norden hinaus verirren, da nördlich des Biobiogebietes die Feuchtigkeit der Luft und des Bodens bedeutend abnimmt, wie aus dem ausgesprochen xerophilen Charakter der dortigen Flora hervorgeht. Ich möchte mir an dieser Stelle eine kleine Abschweifung von meinem eigentlichen Thema erlauben.

Im regenreichen Süden Chiles (zwischen Valdivia und Puerto Montt) fand ich außer dem in Rede stehenden, dort hauptsächlich auf Myrthen (z. B. Myrthus Luma Mol.) beschränkten Pilz noch

2 nahverwandte Rußtau ähnliche Pilze auf Fagus Dombeyi und Weinmannia trichosperma, welche sich durch ihre Sporenträger als selbständige Arten erweisen. Ferner ist Antennaria scoriadea auf den im Stillen Ozean gelegenen Robinsoninseln Juan Fernandez (Mas a tierra und Mas afuera) scheinbar völlig ersetzt durch eine nahverwandte Art mit gleichen Perithecien, aber sehr verschiedenem, Schneckenfühler-ähnlichen, Sporen tragenden Stroma [1]). Dieser Pilz soll auf den Inseln in ungeheurer Menge auftreten und einen Teil der dortigen Urwälder schon vernichtet haben. Endlich kommen in Chile außer den aufgezählten, stets die Wirtpflanze völlig überwachsenden Perisporiaceen noch eine Menge andere Pilze der gleichen Familie vor, welche sich aber meist nur darauf beschränken, mit ihrem auf den Blättern oberflächlich wachsenden Mycel schwarze Flecken zu bilden; auch von diesen zählt Gay in seinem Werke einige Arten auf, wie Asterina Azarae Lév., A. compacta Lév. u. a. m.

Doch kehren wir wieder zur genaueren Beschreibung der Sporenträger von Antennaria scoriadea zurück.

Die einzelnen Aeste und Zweige des Sporenträgers setzen sich zusammen aus 2—4, seltener mehr Mycelfäden. Die von ihnen abgeschnürten Sporen entspringen gewöhnlich aus der Mitte einer Zelle des Mycelfadens. Es lassen sich durchschnittlich 2 Formen unterscheiden. Entweder sind die einzelnen Zellen konisch-cylindrisch, oder sie sind mehr kugelig, so daß die Spore ein rosenkranzähnliches Aussehen erhält (A 3 b). Beide Arten von Sporen entspringen aus cylindrischen Mycelfäden, deren Zellen 2—6mal so lang als breit sind. Stets sind die Sporen dunkelgrau, zuweilen bräunlich und bestehen aus 6—10 Zellen bei einer Länge von 0,06—0,1 mm und größten Breite von 0,01—0,015 mm. Nach dem Abfallen der Sporen scheinen die Sporenträger ihr Wachstum nicht einzustellen, sondern bis zu einer gewissen Größe weiter zu wachsen.

Entwickelung der Sporen. Zunächst entsteht seitlich an einer Zelle des Mycelfadens eine sackartige Ausstülpung. Dieselbe ist an der Basis spitzig, am Scheitel abgerundet (A 2 a); dann entstehen successive 1, 3 etc. Scheidewände (A 3 a), diese jungen Sporen haben noch ein hyalines Aussehen. Zu gleicher Zeit mit der Scheidewandbildung erfolgt von der Basis her die Dunkelfärbung und Verdickung der Zellhaut (A 4).

Gewöhnlich sind die Sporen halbmondförmig gekrümmt, wobei sie ihre konvexe Seite nach außen kehren. Nicht selten auch sind sie schwach geschweift (A 2 b), fast nie gerade.

Neben der beschriebenen tritt regelmäßig eine andere Sporenform auf, welche zwar ungemein charakteristisch ist, aber auch bei anderen nahverwandten Pilzen vorkommt. Es sind dies drei- und vierstrahlige Sporen, deren Zellen kugelige Gestalt haben, hellgefärbt und durchsichtig, später grau-braun sind. Die einzelnen Strahlen

1) In der in Bälde erscheinenden Arbeit F. Johow's, Santiago, Ueber die Flora von Juan Fernandez, habe ich den Pilz unter dem auf die Sporenträger bezogenen Namen Limacinia Fernandeziana beschrieben.

sind gerade oder gewunden, oft ist der 4. oder selbst der 3. Strahl nur durch eine Zelle angedeutet oder fehlt ganz.

Diese Art von Sporen kommt ebenso gut an den stromatischen Sporenträgern als an irgend einer beliebigen Stelle des Mycels vor, wobei sie den Hyphen end- oder seitenständig angeheftet sind. Wie ich in „Frank, Handbuch der Pflanzenkrankheiten" lese, hat der Verfasser dieses Werkes ähnliche Sporen bei Capnodium salicinum beobachtet, desgleichen ich selbst bei dem erwähnten, auf Juan Fernandez wachsenden Pilze.

In manchen Fällen kann man diese Sporen als in der Keimung begriffen finden, dann ist meist ein Arm stark verlängert und die äußersten Zellen langgestreckt und farblos (A 5).

2) Spermogonien.

Die Spermogonien treten in 2 verschiedenen Formen auf:

a) Eiförmige Spermogonien. Dieselben sitzen meistens einzelnen Mycelfäden auf, sind von kugeliger oder ovaler Gestalt und im allgemeinen häufiger als diejenigen der anderen Form; sie scheinen den Höhepunkt ihrer Entwickelung im Frühjahre zu erlangen. Wie keines der übrigen Fruktifikationsorgane zeichnen sie sich durch Mannigfaltigkeit der Größe und Form aus; die beiden Extreme sind einerseits einfache Anschwellungen eines Gliedes der rosenkranzartigen Mycelfäden, andererseits große eiförmige bis kugelige Körper, welche zuweilen sogar die Größe von kleinen Perithecien erreichen. Auffallend ist, daß, während die meisten mit einer deutlichen warzenartig vorgestülpten Mündung versehen sind, welche sich von der übrigen dunklen, polygonalzelligen Spermogonienwandung durch hellere Färbung abhebt, andere hinwiederum keine Spur von einer Oeffnung zeigen (B 1 a und b).

Der Inhalt der Spermogonien besteht aus einer Unzahl sehr kleiner, farbloser, in Schleim gebetteter, einzelliger Spermatien von schwach bisquitförmiger Gestalt (B 1 c).

Durchmesser der Spermogonien 0,03—0,08 mm.

Länge der Spermatien 0,005 mm.

b) Fingerförmige Spermogonien. Die Spermogonien (B 2) der 2. Form unterscheiden sich von den eben besprochenen nur hinsichtlich ihrer Gestalt, nichts des Inhalts. Sie sind fingerförmig, schwach gebogen oder gerade. Die Wandung besteht aus schwarzen, polygonalen, länglichen Zellen, ist an der Spitze durchscheinend und von einer Oeffnung durchbohrt, geht an der Basis allmählich in das dichte, vegetative Hyphengeflecht über. Zuweilen sind mehrere solcher Spermogonien an der Basis untereinander verwachsen oder sie bilden sogar seitliche Ausstülpungen der Pyknidenwand.

Länge der Spermogonien im ausgewachsenen Zustande 0,4—0,8.
Breite „ „ 0,03—0,04.

3) Pykniden.

Diese Fruchtkörper erlangen ihre volle Entwickelung im Sommer. Sie sind häufig begleitet von Spermogonien, besonders von den finger-

förmigen, welchen sie oft zum Verwechseln ähnlich sehen. Sie bedecken mit diesen vereint stellenweise ganze Zweige. Im Mikroskope betrachtet, erscheinen sie als eirunde Körper, welche an einem Ende in einen oft 3—4mal längeren dünnen Hals verjüngt sind. Durch den an der Spitze befindlichen sehr schmalen Porus entweichen die zahlreichen lang gestreckten, an beiden Enden zugespitzten, braunen, ca. 15-zelligen Stylosporen, und zwar verläßt immer nur je 1 Spore die Pyknide. Die Stylosporen sind offenbar in einen (direkt nicht wahrnehmbaren) farblosen Schleim gehüllt und werden so in verhältnismäßig dauerhaften, oft 2—3 mm langen Ranken[1]) ausgestoßen, welche aber, sowie sie angefeuchtet werden, in die sie zusammensetzenden Sporen zerfallen (C 1, 2).

Die südchilenischen Sommer zeichnen sich durch fortwährenden Wechsel von großer Feuchtigkeit und trockener Hitze aus. Es ist so leicht möglich, daß die erwähnten Ranken von dem bei trockenem Wetter sehr starken Südwinde weit weg geführt werden, bei eintretendem Regen aber zerfallen.

Größe der ausgewachsenen Pykniden	0,6 —1,0 mm
Breite des unteren (eiförmig.) Teiles	0,1 —0,15 mm
„ „ Halses	0,04—0,05 mm
Länge der Stylosporen	0,08—0,10 mm

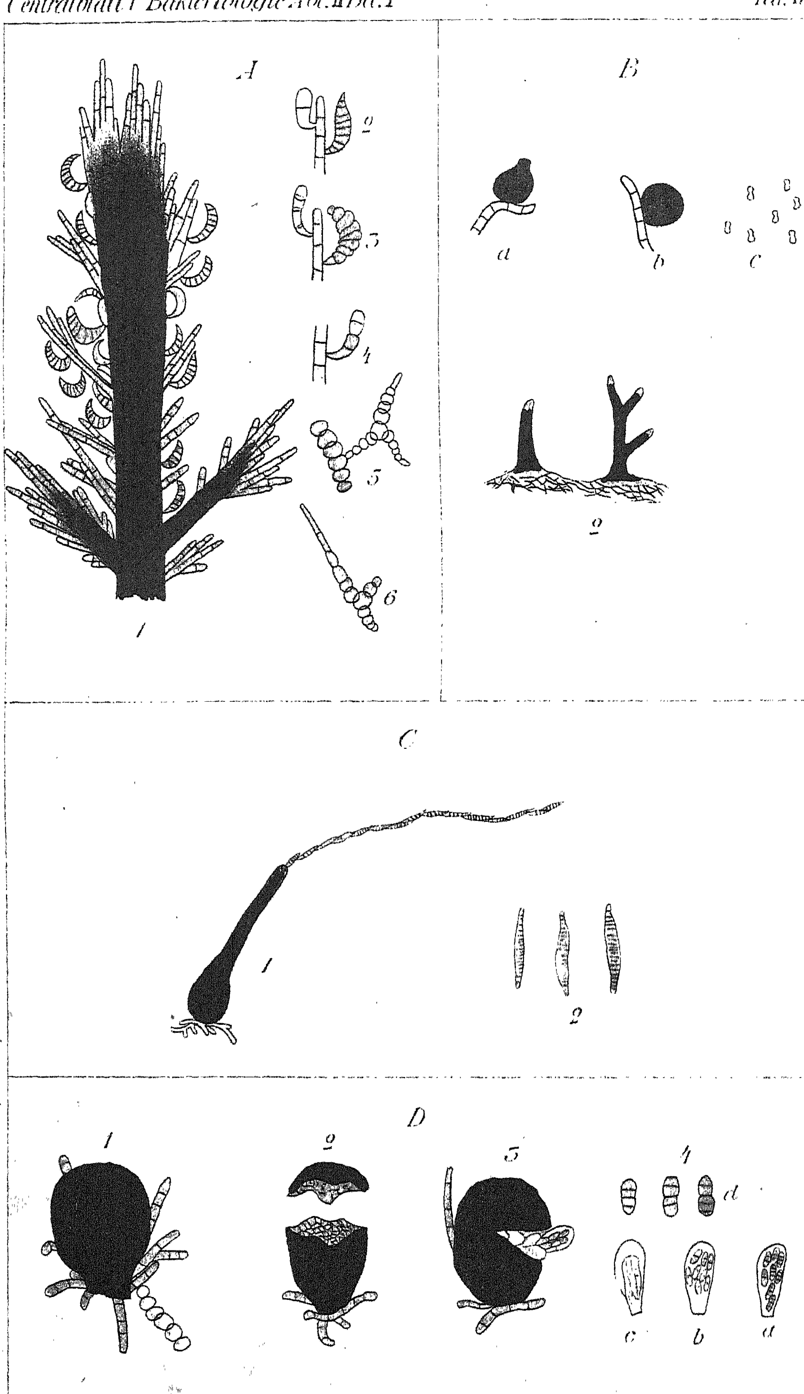
4) Perithecien.

Die 4. Fruchtform, die Perithecien, scheinen hauptsächlich im Herbste aufzutreten, ohne indessen zu anderen Jahreszeiten ganz zu fehlen. Sie sind oval-kugelig (D 1), kohlig, schwarz, einem oder mehreren Mycelfäden angewachsen. Ihre Wand besteht aus polygonalen Zellen. Sie zeigen nie auch nur die geringste Spur einer Oeffnung oder einer Anlage dazu, sondern die Schläuche werden dadurch frei, daß das Perithecium regellos zerbricht oder sich durch eine unregelmäßig verlaufende Spalte öffnet (D 2, 3). Paraphysen kommen (im unreifen Zustande wenigstens) vor. Die Zahl der Schläuche ist wechselnd (10—15). Dieselben (C 4) haben eiförmige Gestalt, sind an der Basis zugespitzt und nur selten dauernd zu Bündeln zusammengewachsen. Die Sporen sind braun-schwarzgrün, 4-zellig und lassen ein breiteres und schmäleres Ende (zu je 2 Zellen) unterscheiden (D 5). Immer in der 8-Zahl vorhanden, füllen sie den Ascus in der Regel nicht ganz aus, besonders in der Jugend (D 4c). Das Epiplasma wird durch Chlorzinkjod rotbraun gefärbt. Das gleiche Reagens ruft in der inneren Auskleidung der Perithecien eine schöne blaue Tinktion hervor, welche um so intensiver ist, je weniger entwickelt die Perithecien sind.

Durchschnittliche Größe der Perithecien	0,15—0,25 mm
„ „ „ Asci	0,06—0,08 mm
„ „ Sporen	0,02—0,025 mm

5) Endlich habe ich noch hier und da Coniothecien beobachtet, vielzellige, unregelmäßig kreisrunde, dunkelgefärbte Zellkörper,

1) Vergleiche die zu Pleospora gehörigen Pykniden!


A
1
2
3
4
5
6
B
a
b
c
2
C
1
2
D
1
2
3
4
a
b
c
d

welche im großen und ganzen mit denjenigen von Capnodium salicinum übereinstimmen.

Ueber die Entstehungsart der letzteren, sowie über die Entwickelungsgeschichte der Perithecien hege ich nur Vermutungen, welche ich noch nicht auszusprechen wage.

Eine längere sorgfältige Beobachtung ist nötig, um absolute Klarheit über diesen Punkt zu erlangen.

Was den Namen des Pilzes anlangt, so scheint mir derselbe allerdings nichts weniger als charakteristisch. Der Gattung Fumago (= Capnodium) kann der Pilz auch nicht untergeordnet werden; am nächsten scheint er (durch seine Perithecien) der deutschen Gattung Perisporium zu stehen. Die Eigenart der „stromatischen" Sporenträger hingegen erfordert wohl für den in Rede stehenden Pilz, welcher mit den übrigen, oben kurz erwähnten, in Chile heimischen nächsten Verwandten eine wohlcharakterisierte Gruppe bildet, die Aufstellung einer neuen Gattung, wenn sich nicht vielleicht die Identität der sog. Antennaria scoriadea mit einem anderen näher bekannten (etwa australischen) Pilze herausstellt.

NB. Zum Schlusse sei eine Beobachtung erwähnt, welche interessant erscheint, wenn sie auch in keiner Beziehung zu den obigen Ausführungen steht. Alle Pflanzen, welche von Antennaria scoriadea überzogen sind, bilden einen beliebten Aufenthalt verschiedener Arten von Ameisen (meist kohlschwarzer!), und zwar tritt diese Erscheinung nicht zufällig oder vereinzelt, sondern regelmäßig auf. Die Ameisen finden offenbar hier ihren Lebensunterhalt, was nicht eben wunderbar wäre nach dem, was aus Brasilien über „Pilze züchtende Ameisen" bekannt geworden ist (Naturw. Rundschau. 1893).

Erklärung der Abbildungen.

(Da die Größe der Fruchtkörper je nach dem Alter sehr verschieden sein kann' so gelten die angegebenen Vergrößerungszahlen nur für bestimmte Objekte.)

A. 1) Sporenträger, halb entfaltet. Vergr. 70.
   2) 3) 4) Teile davon mit 2 a, 3 a 4 jungen Sporen und 2 b, 3 b reifen Sporen } Vergr. 140.
   5) und 6) Strahlige Sporen.

B. Spermogonien.
   1) a und b. Eiförmige Spermogonien mit und ohne Oeffnung. Vergr. 140.
   c Spermatien (sehr stark vergrößert).
   2) Fingerförmige Spermogonien. Vergr. 140.

C. Pykniden.
   1) Reife Pykniden (mittelgroß) mit aus Stylosporen gebildeter Ranke. Vergr. 70.
   2) Einzelne Stylosporen. Vergr. 140.

D. Perithecien.
   1) Geschlossen.
   2) Geöffnet (leer gedacht).
   3) „ mit herausquellenden Ascis. } 70.
   4) a reifer
   b halbreifer
   c unreifer } Sporenschlauch. Vergr. 140.
   d Einzelne Ascosporen. Vergr. 250.

Die von den Mikroben bedingte Inversion des Rohrzuckers.

[Aus dem hygienischen Institute der k. Universität Rom.]

Vergleichende Studien

von

Privatdozent Dr. **Claudio Fermi**

und

Dr. **Giuseppe Montesano.**

(Schluß.)

4) Einfluß des Rohrzuckers auf die Bildung von Invertin.

In den vorhergehenden Untersuchungen haben wir gesehen, welche Mikroben es waren, die in gezuckerter Bouillon eine invertierende Wirkung ausüben. Es war uns nun interessant, zu wissen, ob wirklich zur Produktion des Invertins seitens der Mikroben die Gegenwart des Rohrzuckers notwendig ist.

In dieser Richtung hin besitzen wir schon Untersuchungen von anderen Forschern, aus welchen hervorgeht, daß für Schimmelpilze und Fermente die Gegenwart von Rohrzucker nicht notwendig ist. So züchtete z. B. Fernbach[1]) den Aspergillus niger in Raulin'scher Flüssigkeit und gelang es ihm immer, die Produktion von Invertin nachzuweisen.

Als Nährboden gebrauchten wir gewöhnliche Bouillon mit Glycerinzusatz, und dehnten wir unsere Untersuchungen nicht nur auf obengenannte Mikroben, sondern auch auf Aspergillus niger, Penicillium glaucum und eine bestimmte von uns aus gewöhnlicher (aus einer römischen Bierfabrik stammende) Hefe isolierte Bierhefe aus.

Es schien uns nicht nutzlos, auch mit diesen anderen Mikroben zu experimentieren, deren invertierende Wirkung schon vielfach nachgewiesen ist, da es uns interessierte, zu wissen, ob auf einem Nährboden, der schon an und für sich reichliches und besonders stickstoffhaltiges Nährmaterial besitzt, wie solches bei der Bouillon der Fall ist, die Bildung eines Invertins noch vor sich geht, umsomehr, da kein zu invertierender Rohrzucker zugegen war.

Als Nährboden verwendeten wir die gewöhnliche peptonisierte Bouillon mit 40-proz. Zusatz von Glycerin.

Um einen Beweis für die invertierende Wirkung der auf diesem Nährboden angestellten Kulturen zu geben, vermischten wir dieselben 14 Tage nach der Einimpfung zu gleichen Teilen (5 ccm) mit einer 10-proz. Rohrzucker- und einer 2-proz. Karbollösung in destilliertem Wasser.

---

1) Fernbach, Sur l'invertine ou sucrase de la levure. (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1890. p. 641.) — Sur le dosage de la sucrase. (Ibid. 1889. p. 475.)

Wir impften nun die verschiedenen invertierenden Mikroben in Bouillon nebst Pepton und Glycerin enthaltende Reagenzgläschen ein, und nach 14 Tagen, nachdem die Reinheit der Kulturen mittels Plattenverfahrens bestätigt war, brachten wir sie in die Karbol-Rohrzuckerlösung. Wir achteten darauf, immer die Kulturen, bei welchen eine übermäſsige Acidität schon an und für sich die Inversion hätte bedingen können, zu neutralisieren. Diese Mischungen hielten wir nun für weitere 14 Tage bei einer Temperatur von 37 ^{0} und dann versuchten wir endlich an ihnen die Nylander'sche und die Rubner-Penzoldt'sche Reaktion.

Die eingeimpften Mikroorganismen waren folgende:

1) Bac. Megaterium,
2) „ des Kieler Hafens,
3) „ fluorescens liquefaciens,
4) Proteus vulgaris,
5) weiße Hefe,
6) rosa Hefe,
7) Bierhefe,
8) Aspergillus niger,
9) Penicillium glaucum,
10) Cholera-Vibrio (3 Varietäten),
11) Vibrio Metschnikovi.

Die Ergebnisse waren beständig positiv, mit Ausnahme des Koch'schen und Metschnikoff'schen Vibrio, bei welchen nur selten Spuren von Traubenzucker aufzufinden waren.

Hieraus mußten wir schließen, daß zur Produktion des Invertins die Gegenwart des Rohrzuckers nicht unbedingt nötig ist.

Aus denselben Untersuchungen konnten wir außerdem noch ersehen, daß die Inversion wahrscheinlich nicht der Aktivität des lebenden Protoplasmas, sondern eines Enzyms zuzuschreiben ist.

4a) Einfluß anderer Veränderungen in der Zusammensetzung der Nährbouillon auf die Bildung des Invertins.

In den vorhergehenden Untersuchungen bedienten wir uns mit gutem Erfolge der Bouillon mit Zuthat von Pepton und Glycerin. Es schien uns nicht ungelegen zu sein, den Einfluß anderer Verändererungen in der Zusammensetzung der Bouillon zu studieren und dieser statt des Glycerins Traubenzucker hinzuzufügen.

Wir fingen nun an, kein Glycerin mehr zu gebrauchen. Wir impften zwei Serien Reagenzgläser mit je 10 ccm peptonisierter, glycerinfreier Bouillon mit den Mikroben ein, welche schon ein beständiges Inversionsvermögen bewiesen hatten. Als Gegenversuch wiederholten wir gleichzeitig die Einimpfung derselben Mikroben in Glycerin enthaltende Bouillon.

Nach 14 Tagen und nach bestätigter Reinheit der Kulturen suchten wir in der gewöhnlichen Weise das Invertin auf: 5 ccm der Kulturflüssigkeit wurde dieselbe Quantität Karbol-Rohrzuckerlösung zugesetzt, nach weiteren 14 Tagen wurde der invertierte Zucker gesucht, und es ergaben sich folgende Resultate:

Mikrobenart	Ergebnisse der Traubenzuckerprobe aus den Kulturen in	
	A. glycerinhaltiger Bouillon	B einfacher Bouillon
Megaterium	positiv	unbeständig positiv (2 : 4)
Proteus vulgaris	„	negativ
Bac. fluoresc. liquef.	„	„
„ des Kieler Hafens	„	„
Weiße Hefe	„	positiv
Rosa Hefe	„	Spuren
Bierhefe	„	positiv
Aspergillus niger	„	„
Penicillium glaucum	„	„

Resultate. Diese Tabelle ergiebt deutlich, daß in einfacher Bouillon die Produktion des Invertins durch Prot. vulg., B. des Kieler Hafens und B. fluoresc. liquef. aufgehoben, die durch Bac. Megaterium unbeständig und die durch rosa Hefe sehr verringert wird. Wiederholte Untersuchungen selbst mit 40 Tage alten Kulturen veränderten diese Resultate nicht.

Wir wollten dann noch eine Probe anstellen, und brachten an Stelle des Glycerins Traubenzucker in die Bouillon.

Es war interessant, zu versuchen, ob in Gegenwart von Traubenzucker die Ausscheidung von Invertin noch stattfinden würde.

Um nun in diesen Versuchen das Invertin mittels Bestimmung des invertierten Zuckers zu beweisen, impften wir die verschiedenen Mikroben in Reagenzgläschen, jedes 20 ccm Bouillon nebst $^1/_2$ Proz. Traubenzucker enthaltend, ein; nach bestätigter Reinheit der Kulturen mittels Plattenverfahren teilten wir den Inhalt jedes Gläschens in zwei gleiche Teile: der einen Hälfte wurden 10 ccm Karbolrohrzucker, der anderen 10 ccm einer 2-proz. Karbollösung zugesetzt, und dies, um eine gleiche Verdünnung auch bei der Vergleichsprobe zu haben.

Es ist klar, dafs, da in beiden Versuchen mittels des Karbols die weitere Entwickelung der Mikroben verhindert wird und somit die weitere Umwandlung des präexistierenden Traubenzuckers, wenn man die in beiden Proben enthaltene Traubenzuckerquantität nach einer bestimmten Zeit verglich, es möglich war, danach zu deduzieren, ob eine Produktion aktiven Invertins stattgefunden hatte. Die Proben des Traubenzuckers wurden nach 14 Tagen angestellt. Zu diesem Zwecke gebrauchten wir, aufser der approximativen Bestimmung nach Nylander und Rubner-Penzoldt, auch die direkte Bestimmung mittels Fehling.

Die Ergebnisse sind folgende:

Mikrobenart	Quantität des präexistierenden Traubenzuckers	Quantität d. präexistierenden invertierten Traubenzuckers
Bac. fluoresc. liquef.	geringe Spuren	geringe Spuren
„ des Kieler Hafens	„	„
Proteus vulgaris	„	„
Bac. Megaterium	„	mäßig
Weiße Hefe	„	reichlich
Rosa Hefe	„	„
Bierhefe	„	„
Aspergillus niger	„	sehr reichlich
Penicillium glaucum	„	„

Resultate. Aus dieser Tabelle ist ersichtlich, daß durch die verschiedenen Mikrobenarten, außer durch B. des Kieler Hafens, B. fluor. liquef. und Proteus vulg., eine Zunahme der Traubenzuckerquantität, und somit die Produktion von Invertin auch in Gegenwart von Traubenzucker stattfindet.

Wenn man nun die verschiedenen Nährsubstrate unter einander vergleicht, so sehen wir klar daraus, daß, während in der gezuckerten und in der glycerinhaltigen Bouillon die Produktion von Invertin durch alle Mikrobenarten konstant ist, in der einfachen und in der traubenzuckerhaltigen Bouillon diese Produktion durch Bac. fluor. liquef., B. des Kieler Hafens und Prot. vulg. ganz und gar aufhört, in der einfachen Bouillon die durch Bac. Megat. und rosa Hefe unbeständig oder verringert wird.

5) Produktion von Invertin seitens der verschiedenen Mikrobenarten in den verschiedenen Nährbouillons in Beziehung auf das Alter der Kulturen.

Nachdem wir bewiesen hatten, daß die Zusammensetzung der Bouillon für die Invertinproduktion seitens einiger Mikroben nicht indifferent war, interessierte es uns, zu untersuchen, ob die nämlichen Veränderungen der Nährsubstrate die Produktion von Invertin beschleunigen oder verzögern könnten.

Wir untersuchten deshalb das Invertin in den verschiedenen Kulturböden der verschiedenen Mikrobenarten während verschiedener Entwickelungsstufen; dabei wandten wir die schon oben erwähnte Untersuchungsmethode an, mit welcher nicht nur das in der Flüssigkeit, sondern auch das in den Zellen enthaltene Invertin entdeckt wird.

Für uns war das um so notwendiger, als zwischen den Arbeiten Fernbach's[1]) und Sullivan's[2]) einige Differenzen vorliegen. Da eben oft das Invertin mit einiger Verspätung in die Kulturflüssigkeit übergeht, so war es leicht, in Irrtümer zu geraten, wenn man nur das Filtrat untersuchte.

Zu 5 ccm der verschiedenen Kulturen gofs man zu verschiedenen Zeiten 5 ccm der Karbol-Rohrzuckerlösung zu und nach 14 Tagen unternahm man die gewöhnliche Zuckerprobe.

Bei der Bouillon mit Rohrzucker unternahmen wir die Probe zum Teil gleich und zum Teil nach 14 Tagen; in der Zwischenzeit thaten wir eine Karbolsäurelösung zu gleichen Teilen hinzu, und dies, um zu sehen, ob es in den Kulturen in gezuckerter Bouillon eine bestimmte Zeit der Entwickelung gäbe, in welcher kein Traubenzucker nachzuweisen ist, aber doch schon ein Enzym, welches später im stande ist, auf den Rohrzucker einzuwirken.

Bei der Bouillon mit Traubenzucker verfuhren wir wie in den vorher angegebenen Experimenten, um aus der Zunahme des Traubenzuckers auf die Produktion des Invertins schliefsen zu können.

---

1) S. l. c.

2) O' Sullivan, The hydrolytic functions of yeast. I. II. (Journal of the Society Transactions. XLI. 1892. p. 124 a. 926.)

Hier sind nun die Resultate, der Kürze wegen, in einer kleinen Tabelle zusammengefaßt:

Zeit, zu welcher das Inversionsvermögen der Kulturen auf den verschiedenen Nährböden anfängt, nachweisbar zu werden:

	Mikrobenart	Nährsubstrat				
		A. Einfache Bouillon	B. Bouillon mit Glycerin	C. Bouillon mit Traubenzucker	D. Bouillon mit Rohrzucker a) gleich angestellte Probe	D. Bouillon mit Rohrzucker b) n. 14 Tag. angestellte Probe
1	Proteus vulgaris	—	am 1. Tage	—	am 5. Tage	am 4. Tage
2	Bac. fluoresc. liquef.	—	„ 2. „	—	„ 2. „	„ 1. „
3	„ des Kieler Hafens	—	„ 4. „	—	„ 1.—2. T.	„ 1. „
4	„ Megaterium	—	„ 2. „	am 3. Tage	„ 3. Tage	„ 2. „
5	Weiße Hefe	am 5. Tage	„ 2. „	„ 2.—3. T.	„ 8. „	„ 7. „
6	Rosa „	—	„ 2.—3. T.	„ 2.—3. „	„ 8. „	„ 7. „
7	Bierhefe	am 4. Tage	„ 2. Tage	„ 2.—3. „	„ 9. „	„ 8. „
8	Aspergillus niger	„	„ 2.—3. T.	„ 2. Tage	„ 2. „	„ 1. „
9	Penicillium glaucum	„	„ 2.—3. T.	„ 2. „	„ 2. „	„ 1. „

Resultate. Aus der Tabelle geht hervor, daß die Produktion von Invertin seitens der mit Inversionsvermögen begabten Mikroben in den verschiedenen Nährsubstraten zu verschiedenen Zeiten anfängt.

Gewöhnlich haben wir die ersten Erscheinungen am 2. oder 3. Tage, manchmal schon nach 24 Stunden, wie z. B. beim Kieler Bacillus in Bouillon mit Rohrzucker, beim Proteus vulgaris in Bouillon mit Glycerin; manchmal aber erst am 8. oder 9. Tage, wie z. B. bei den in Bouillon mit Rohrzucker kultivierten Hefearten.

Es existieren dann auch Unterschiede bei ein und derselben Mikrobenart, je nach dem Nährboden. In der einfachen Bouillon tritt das Enzym gewöhnlich verspätet auf.

Bemerkenswert ist die Verspätung bei der Rosa-Hefe.

Das Erscheinen des Enzyms haben wir dagegen früher in der glycerinierten als in der Rohrzucker enthaltenden Bouillon, mit Ausnahme des Kieler Bacillus und der Schimmelpilze, bei welchen das Gegenteil geschieht.

Wir erinnern daran, daß während dieser Untersuchungen immer der Entwickelungsgrad der Kulturen beachtet wurde.

Endlich ist noch hervorzuheben, daß in den Kulturen in Bouillon mit Rohrzucker Invertin schon zu einer Zeit der Entwickelung nachgewiesen wird, in welcher noch keine Spur von Invertzucker aufzufinden ist.

6) Mikrobenarten, welche auf eiweißfreien Nährsubstraten invertieren.

Da nach den Untersuchungen von Fermi Mehreres über die Produktion des proteolytischen und des diastatischen Enzyms seitens der Mikroben in eiweißfreien Flüssigkeiten bekannt ist, so haben wir auch ähnliche Untersuchungen für das Inversionsferment anstellen wollen.

Während man nach den Studien Pasteur's, Fernbach's[1]) u. A. schon wußte, daß einige Hypho- und Blastomyceten in eiweißfreien Flüssigkeiten Invertin secernieren, so war doch in dieser Hinsicht nichts über die Schizomyceten bekannt, deshalb dehnten wir auf letztere unsere Untersuchungen aus, ohne jedoch einige Proben mit den ersteren zu unterlassen, und zwar in ganz einfachen Flüssigkeiten, z. B. in 5-proz. Glycerin- oder Rohrzuckerlösungen in destilliertem Wasser.

Die von uns experimentierte Nährsalzlösung war folgende:

Weinsaures Ammon	0,5	g
Phosphorsaures Kali	0,5	„
Schwefelsaures Magnesium	0,5	„
Phosphorsaurer Kalk	0,05	„
Rohrzucker oder Glycerin	5,0	„
Destilliertes Wasser	100,0	„

Die Lösungen wurden in Reagenzgläschen verteilt und dann die gewöhnlichen Mikroben eingeimpft.

Nach 14 Tagen wurde in den Kulturen das Invertin nachgesucht. Zu diesem Zwecke vereinigten wir 5 ccm der Kulturflüssigkeit mit 5 ccm der Rohrzuckerlösung und nach weiteren 14 Tagen wurden die gewöhnlichen Proben für den Nachweis des Invertzuckers angestellt.

Resultate: Die verschiedenen mit Inversionsvermögen versehenen Mikroben geben alle in der Salzlösung mit Glycerin oder Rohrzucker Invertin ab, außer dem Kieler Bacillus in der Lösung mit Glycerin und dem *Proteus vulgaris* in der mit Rohrzucker.

Man kann so im allgemeinen den Schluß daraus ziehen, daß die Hypho-, Blasto- und Schizomyceten auch auf eiweißfreiem Nährboden fähig sind, Invertin zu produzieren.

Mit den Schimmelpilzen haben wir auch auf noch einfacherem Nährsubstrate Proben anstellen wollen, und zwar mit einer reinen 5-proz. Glycerin- oder Rohrzuckerlösung in destilliertem Wasser.

Interessant waren diese Versuche, da in dem Nährsubstrate absolut keine Salze und auch gar keine stickstoffhaltigen Elemente enthalten waren.

Wir dehnten unsere Untersuchungen auf die anderen mit Inversionsvermögen versehenen Mikroben nicht aus, da man schon weiß, daß sie auf solchem Nährboden keiner Entwickelung fähig sind.

Die Lösungen wurden in Reagenzgläschen und Kolben verteilt und dann eingeimpft. Die Entwickelung ging sehr langsam vor sich: das Invertin wurde nicht nach 14 Tagen, wie gewöhnlich, sondern erst nach einem Monate nachgesucht.

Die Ergebnisse waren immer vollständig positiv, so für *Penicillium glaucum* wie für *Aspergillus niger*. Invertzucker, wenn auch in geringeren Quantitäten, wurde immer aufgefunden.

Diese Resultate sind jedenfalls nicht ganz ohne Wert. Die Produktion eines invertierenden Enzyms auf gänzlich stickstofffreiem Nährboden könnte uns auf den Gedanken bringen, daß im Protoplasma des betreffenden Mikroben wie auch in der chemischen Konstitution

1) S. l. c.

des Enzyms absolut kein Stickstoff enthalten sei. Um diese Frage ins Reine zu bringen, müßte man die Mikroben unter Ausschluß des Stickstoffes der Luft züchten oder in den Kulturen selbst Stickstoff chemisch nicht nachweisen können.

7) Verhalten des Invertins der verschiedenen Mikroben zum Porzellanfilter.

Wir unternahmen diese Untersuchungen nicht nur, um zu sehen, ob die von uns studierten Enzyme durch den Filter gehen oder nicht, sondern um die Unterschiede aufzusuchen, die in dieser Hinsicht für ein und denselben, aber auf verschiedenen Nährsubstraten und in verschiedenen Verhältnissen gezüchteten Mikroben existieren.

Fernbach[1]) hatte gefunden, daß, während das Invertin der Bierhefe durch den Chamberland'schen Filter passiert, dasjenige des in Raulin'scher Flüssigkeit gezüchteten Aspergillus niger im Gegenteil zurückgehalten wird.

Als Nährboden wählten wir glycerinhaltige Bouillon und die oben angeführte Nährsalzlösung mit Glycerin. Die Kulturen wurden nicht mehr in Reagenzgläschen, sondern in einen Liter der Nährlösung enthaltenden Kolben angestellt. Die Kulturen wurden in den Ofen gestellt, nach 45 Tagen filtriert; dem Filtrate wurde die gewöhnliche Quantität von Karbol-Rohrzuckerlösung zugegossen und nach 90 Tagen der Invertzucker nachgesucht.

Die Resultate waren folgende:

Mikrobenart	Zuckerprobe auf den verschiedenen Nährböden	
	A. Bouillon mit Glycerin	B. Nährsalzlösung mit Glycerin
Megaterium	Spuren	negativ
Kieler Bacillus	"	—
Proteus vulgaris	"	negativ
Bac. fluoresc. liquefac.	"	Spuren
Weiße Hefe	positiv	positiv
Rosa "	"	"
Bierhefe	"	"
Aspergillus niger	"	"
Penicillium glaucum	"	negativ

Resultate. Aus dieser Tabelle ist zu ersehen, daß das Invertin aus den Kulturen in Bouillon mit Glycerin gewöhnlich durch den Filter passiert, während das aus den Kulturen in Nährsalzlösung mit Glycerin zurückgehalten wird. Wir fügen noch hinzu, daß das Invertin desto leichter nachzuweisen ist, je älter die Kulturen sind und je größer die Quantität der Flüssigkeiten ist. Bei den Hefearten und Schimmelpilzen wird die Filtrierung erleichtert, wenn man einige Tage vorher etwas Karbolsäure hinzuthut. Es ist möglich, daß diese etwas Invertin in Freiheit setzt. Auch ist es wahrscheinlich, daß

1) S. l. c.

die gesagten Unterschiede zwischen den verschiedenen Kulturen von der in der Flüssigkeit enthaltenen Quantität des Invertins abhängig sind.

Infolge von Untersuchungen von Fermi weiß man, daß die Poren des Porzellanfilters im allgemeinen eine gewisse Quantität Enzym zurückhalten und wenn man dieselbe Flüssigkeit wiederholt durch Chamberland'sche Kerzen dringen läßt, in dem Filtrate zuletzt kein Enzym mehr nachweisbar ist.

Wir können noch hinzusetzen, daß nicht nur die Porzellan-, sondern auch Papierfilter die Fähigkeit besitzen, das Invertin zurückzuhalten.

In der That, während die Kulturen von Aspergillus niger und Penicillium glaucum in einer einfachen 5-proz. Glycerinlösung eine mäßige Inversionsfähigkeit, wie bereits gesagt, aufwiesen, konnten wir doch aus den Papierfiltraten keine Inversion haben, selbst mit sehr üppigen und alten Kulturen und nachdem die Nährflüssigkeit über einen Monat im Ofen gestanden hatte.

Diese Experimente geben einen immer besseren Beweis dafür, daß die durch die Mikroben bedingte Inversion das Werk eines löslichen Enzyms ist.

Und jetzt, einen Augenblick von unserem Thema abweichend, möchten wir uns folgende Frage stellen: Nachdem wir angenommen haben, daß dieses lösliche Enzym in- und außerhalb der Zellen vorhanden ist, ist das Faktum der Inversion immer und ausschließlich ihm zuzuschreiben? Oder ist vielleicht manchmal das Protoplasma dabei aktiv thätig?

Es ist nicht leicht, diese Frage zu beantworten.

Wir sind geneigt, die zweite dieser beiden Hypothesen auszuschließen, und zwar aus dem schon angebrachten Grunde, daß das Erscheinen des Traubenzuckers in der mit Rohrzucker versetzten Bouillon fast niemals (den Kieler Bacillus ausgenommen) mit dem Anfange der Entwickelung der betreffenden Mikrobenart zusammenfällt und es gewöhnlich eine Zeit giebt, während welcher kein Traubenzucker in der Kultur vorhanden, das Enzym aber doch nachzuweisen ist. Diese Thatsache ist natürlich mit der Annahme einer direkten Aktivität des Protoplasmas schwerlich in Einklang zu bringen, da man sich nicht erklären könnte, wie in total oder fast ganz entwickelten Kulturen, deren Zellen sich in völliger Aktivität befinden, zu gleicher Zeit keine Inversion des Rohrzuckers stattfindet.

8) Unterschiede in der Quantität des in den Kulturen der verschiedenen Mikroben enthaltenen Invertins.

Nachdem wir das Vorhandensein eines löslichen Enzyms in den Kulturflüssigkeiten der verschiedenen mit Inversionsvermögen versehenen Mikroben bestätigt hatten, wollten wir gern die Quantität desselben in den verschiedenen Nährsubstraten untersuchen.

Als Nährboden gebrauchten wir Bouillon mit Zusatz von Glycerin. Zur Dosierung des Invertins zogen wir dem komplizierten Verfahren Fernbach's[1]) ein einfacheres und kürzeres vor, mit welchem man

---

[1]) S. l. c.; auch: Fernbach, Sur le dosage de la sucrase. (Annales de l'Institut Pasteur. 1890. p. 1.)

die kleinste Quantität einer Kultur bestimmt, welche, mit 10 ccm einer Karbol-Rohrzuckerlösung zusammengethan, die Fähigkeit besitzt, eine nachweisbare Quantität desselben Rohrzuckers zu invertieren.

In jedem Falle haben wir Sorge getragen, die Proben zu neutralisieren.

Die Reagenzgläschen kamen in den Ofen; nach einem Monate wurde der Invertzucker nachgesucht und konnten wir uns überzeugen, wie der Gehalt an invertierendem Enzym in den einzelnen Kulturen verschieden war. Während 1—3 Tropfen einer Kultur von Penicillium glaucum, Aspergillus niger oder Bierhefe genügten, um 10 ccm einer Karbol-Rohrzuckerlösung zu invertieren, waren deren mit der weißen und rosa Hefe 8—10 notwendig, und mit Proteus vulg., Bac. fluorescens liquef., Megaterium, Kieler Hafen haben wir 2—3 ccm zugießen müssen, ehe sich die ersten Spuren von Invertzucker bemerkbar machten.

9) Einfluß der Wärme auf das invertierende Enzym.

Der Einfluß der Wärme auf das Invertin der verschiedenen Mikrobenarten wurde von verschiedenen Gesichtspunkten aus studiert.

Erstens stellten wir den Versuch an, ob man den Mikroben, wenn sie der Wärme ausgesetzt werden, die Fähigkeit, Invertzucker von sich zu geben, entziehen könne.

Zweitens untersuchten wir, bei welcher Temperatur das Invertin zerstört wird.

Drittens versuchten wir, bei welcher Temperatur die verschiedenen Enzyme noch aktiv sind.

a) Versuche, die Invertinproduktion seitens der Mikroben durch Wärme zu zerstören.

Kulturen in Glycerinbouillon wurden 1—2 Stunden lang einer Temperatur von 50°—60° C ausgesetzt, dann übertrug man dieselben in Bouillon, Glycerin und auf Agar und probierte zuletzt mit dem gewöhnlichen Verfahren, welche der noch lebenden Mikroben ihr Inversionsvermögen beibehalten hatten.

Mikrobenart	Temperaturen und Dauer			
	50° auf 1 Stunde		50° auf 2 Stunden	
	Erfolg der Einimpfung	Invertzucker-probe	Erfolg der Einimpfung	Invertzucker-probe
Megaterium	positiv	positiv	positiv	positiv
Kieler Hafen	"	"	"	Spuren
Fluorescens liquefaciens	"	"	negativ	—
Proteus vulgaris	"	"	positiv	negativ
Weiße Hefe	"	"	negativ	"
Rosa "	"	"	positiv	positiv (?)
Bierhefe	"	"	negativ	negativ
Aspergillus niger	"	"	positiv	positiv
Penicillium glaucum	"	"	"	"

Resultate. Aus dieser Tabelle geht hervor, daß nur bei Proteus vulgaris und auch beim Bacillus des Kieler Hafens und Rosa-Hefe, aber nur unvollständig, die Produktion von Invertin mittels 2-stündiger Erhitzung bis zu 50° C aufgehoben oder verringert werden kann, und kann dies bis über die 5. Uebertragung fortdauern.

Bei den anderen Mikrobenarten konnten wir die Produktion von Invertin nicht aufheben, ohne die Kultur zu zerstören. Dasselbe können wir aber nicht für die Schimmelpilze angeben, da sie bei dem von uns erreichten Temperaturmaximum (60° 1 Stunde lang) ihr Inversionsvermögen noch beibehielten.

b) Einfluß der Wärme auf Invertin.

Aus den Untersuchungen Fernbach's[1]) geht hervor, daß das mit dem gewöhnlichen Verfahren (Vermengung mit Sand u. s. w.) gewonnene Invertin des Aspergillus niger bei einer Temperatur von 70° vollständig zerstört wird. Derselbe Autor ließ auch Bierhefe $^1/_4$ Stunde lang in einer im Gewicht 5—10fachen Quantität Wasser kochen und fand dann im Filtrate eine aktives Invertin enthaltende Flüssigkeit. Nach Fernbach also würde sich das Invertin in den Zellen in solchen Verhältnissen finden, daß es dem Einflusse der Wärme besser so als im gelösten Zustande widersteht. So fand er auch, daß man unter 70° das Invertin zerstören konnte, wenn auch in kürzerer Zeit.

Wir wollten den Einfluß der verschiedenen Temperaturen auf die Kulturen in Glycerinbouillon der verschiedenen mit Inversionsvermögen versehenen Mikroben untersuchen, um zu sehen, welche die vollständige Zerstörung des Invertins ermöglicht.

Zu diesem Zwecke bereiteten wir mehrere Serien von Reagenzgläsern vor, deren jedes 10 ccm Glycerinbouillon enthielt, und impften dann die gewöhnlichen Mikroben ein.

Nach einer Entwickelungszeit von 30 Tagen setzten wir die Kulturen der Einwirkung verschiedener Temperaturen aus, von 60°—100°, 1—2 Stunden lang. Die gewöhnliche Invertzuckerprobe gab folgende Resultate:

der Aussetzung der Kulturen.

55° auf 1 Stunde		55° auf 2 Stunden		60° auf 1 Stunde	
Erfolg der Einimpfung	Invertzucker-probe	Erfolg der Einimpfung	Invertzucker-probe	Erfolg der Einimpfung	Invertzucker-probe
negativ	—	negativ	—	negativ	—
"	—	"	—	"	—
"	—	"	—	"	—
"	—	"	—	"	—
"	—	"	—	"	—
"	—	"	—	"	—
"	—	"	—	"	—
positiv	positiv	positiv	positiv	positiv	positiv
"	"	"	"	"	"

1) S. l. c.

Mikrobenart	Minimaltemperatur, bei welcher das Invertin zerstört wird	Temperaturmaximum, bei welchem noch Invertin nachzuweisen ist
Megaterium	60° nach 2 Stunden, oder 65° nach 1 Stunde	60° nach 1 Stunde
Proteus vulgaris	do.	do.
Bac. des Kieler Hafens	do.	do.
„ fluor. liquef.	do.	do.
Weiße Hefe	70° nach 1 Stunde	65° nach 2 Stunden
Rosa „	do.	do.
Bierhefe	do.	do.
Aspergillus niger	100° nach 1 Stunde	100° nach $^1/_2$ Stunde
Penicillium glaucum	do.	do.

Resultate. Man sieht, daß hier das Invertin der verschiedenen Mikroben ungleichen Widerstand darbietet.

Interessant ist die Thatsache, daß die Temperatur von 100° nach 1 Stunde (Aspergillus niger, Penicillium glaucum) nicht imstande ist, sämtliches in den Glycerinbouillonkulturen enthaltenes Enzym einiger Hyphomyceten zu zerstören.

Wenn man aber nicht die Kulturen, sondern ihr Filtrat der Einwirkung der Wärme aussetzt, dann geht die Zerstörung des Enzyms leicht und rascher vor sich. Diese Thatsache ist nicht dadurch zu erklären, wie Fernbach möchte, daß das Enzym sich in Zellen eingeschlossen befindet, sondern dadurch, daß die Enzyme im reinen Zustande weniger widerstandsfähig sind.

c) Temperatur, bei welcher das Invertin noch aktiv ist.

Nach Untersuchungen Anderer [1]) ist bekannt, daß das Maximum der Aktivität des Invertins einiger Hypho- und Blastomyceten sich bei 56° C äußert. Wir begnügten uns deshalb nur mit Schistomyceten zu experimentieren, deren Invertin schon bei 60° nach 2 Stunden oder 65° nach 1 Stunde vollständig zerstört wird, und zwar um zu sehen, ob diesselbe Invertin, mit Rohrzucker vermengt, widerstandsfähiger sei als in einfacher Lösung.

Wir wollten nun die Temperatur auffinden, bei welcher dasselbe noch fähig ist, zu invertieren.

Vierzehntägige Kulturen des Kieler Bacillus, Proteus vulgaris und fluoresc. liquef. wurden zu gleichen Teilen mit einer Karbol-Rohrzuckerlösung vermischt und in einen Thermostaten, dessen Temperatur zwischen 60° und 70° schwankte, gestellt.

Nach 5 Tagen unternahmen wir die gewöhnliche Invertzuckerprobe, welche für alle drei positiv ausfiel. Das Inversionsvermögen war aber etwas verringert.

Wir mußten daraus den Schluß ziehen, daß bei einer Temperatur von 60°—70° das mit Rohrzucker vermengte Invertin einiger Schistomyceten seine Wirkung beibehält und Traubenzucker produziert, während bei derselben Temperatur das einfache (nicht mit Rohr-

1) S. Sullivan, Fernbach l. c.

zucker vermengte) Invertin vollständig zerstört oder wenigstens inaktiv gemacht wird.

Wie erklärt sich diese Thatsache? Geht die Inversion vor sich, ehe das Invertin bei der angegebenen Temperatur zerstört wird; oder ist das aktive Invertin, wie einer von uns schon für das Trypsin bewiesen, widerstandsfähiger als das inaktive? Sullivan nimmt letzteres an.

Um diese Frage zu entscheiden, stellten wir einige Versuche an. Wir verglichen den nach zweistündiger Einwirkung einer Temperatur von 60°—70° (wobei das einfache Invertin schon zerstört wird) produzierten Invertzucker mit der nach 5 Tagen bei derselben Temperatur erhaltenen Quantität. So konnten wir die erste der beiden Hypothesen als unannehmbar erklären, da wir mehr Traubenzucker aufgefunden hatten, wo die Wärme länger gewirkt hatte. So können wir nun sagen, daß die zweite Hypothese die richtige ist.

Wir wollen noch daran erinnern, daß wir zu gleichen Resultaten gelangten, als wir die Wirkung des Karbols auf genanntes Enzym studierten.

So ist auch in diesem Falle das allgemeine Gesetz giltig, daß Lösungen in Wasser aktiver oder mit Kolloid-, Kohlehydratsubstanzen, mit Salzen u. s. w. vermengter Enzyme gegen physische und chemische Einwirkungen viel widerstandsfähiger sind, als im inaktiven oder reinen Zustande.

10) Einwirkung der Säuren und Alkalien auf das Inversionsvermögen der Mikroben.

a) Wirkung der Säuren.

Es giebt diesbezügliche Untersuchungen von Fernbach[1]), welcher fand, daß die Inversion in einer Flüssigkeit stärker war, in der eine gewisse Acidität aufzuweisen war, deren Optimum variierte, je nachdem es sich um Aspergillus niger oder um einige Bierhefearten handelte. Fernbach und auch Kjeldal[2]) fanden ferner, daß, wenn einerseits eine geringe Acidität die Inversion begünstigte, dagegen eine durch direkte Einwirkung starke Acidität, während sie eine größere Quantität Invertzucker produzierte, die durch das Invertin produzierte Masse verringerte.

Unsere Untersuchungen waren daraufhin gerichtet, zu experimentieren, welche von einigen Säuren und in welcher Konzentration dieselben das in den Kulturen enthaltene invertierende Enzym einiger Mikroben vollständig zu zerstören fähig sind.

Wir ließen die Säuren 1—5 Tage lang in Berührung mit den Kulturen; dann neutralisierte man und probierte das Inversionsvermögen des Enzyms mit der gewöhnlichen Karbol-Rohrzuckerlösung.

Die Proben entnahmen wir aus dreitägigen, in kleinen Kolben angestellten Kulturen, thaten eine $^1/_2$-proz. Karbollösung hinzu und verteilten sie dann in Reagenzgläschen.

---

1) S. l. c.
2) Meddel. f. Carlsberg Laboratoriet. 1881.

Von diesen Untersuchungen werden wir nur die das Invertin der Hypho- und Blastomyceten betreffenden wiedergeben; über das Invertin der Schistomyceten müssen wir schweigen, da es schon vor dem Experimente durch das, um Verunreinigungen zu verhindern, hinzugethane Karbol fast vollständig zerstört war.

Die von uns angewandten Säuren waren: Milch-, Essig-, Salz-, Schwefel- und Salpetersäure. 5 ccm der Kultur wurden mit 5 ccm der Säure vermischt, die Säurelösungen waren je nach der Mikrobenart verschieden.

Wir sahen nun, daß das Inversionsvermögen der Schimmelpilze den Säuren gegenüber widerstandsfähiger ist, als das einiger Hefearten, sowie daß die anorganischen Säuren schädlicher als die organischen sind.

b) Wirkung der Alkalien.

Die schädliche Wirkung der Alkalien wurde schon von Fernbach und Sullivan[1]) hervorgehoben, welche mit Aetz- und Erdalkalien experimentierten; sie sahen, daß die ersteren schon in schwachen Dosen die Aktivität des Invertins dem Rohrzucker gegenüber merklich abschwächten.

Wir verfolgten hier dasselbe Verfahren wie mit den Säuren. Neutralisiert wurde mit Milchsäure. Wir probierten mit kohlensaurem Natron, Ammoniak und Kalihydrat. Die Reagenzgläschen mit Ammoniak wurden mit Gummipfropfen verschlossen, damit keine Verflüchtigung stattfände.

Auch in diesen Versuchen fanden wir eine größere Widerstandsfähigkeit von seiten des Invertins der Hyphomyceten. Am schädlichsten erwies sich das Kalihydrat; das kohlensaure Natron war weniger schädlich als das Ammoniak.

11) Verhalten des invertierenden Enzyms zur Dialyse.

Nach den Untersuchungen von Hammarsten[2]), Wolffhügel[3]) und Fermi[4]) wußte man, daß die Fermente im allgemeinen der Dialyse gegenüber sich negativ verhalten, besonders das Pepsin, das Trypsin und das proteolytische Enzym der Mikroben.

Wir wollten probieren, ob dasselbe mit dem invertierenden Enzym der Mikroben geschieht. Wir verteilten die verschiedenen Kulturen in kleine Glaskrausen (in jede 20 ccm), deren Oeffnungen mit dickem Pergamente sorgfältig und fest verschlossen wurden, und stülpten sie dann in 20 ccm einer 1-proz. Karbollösung enthaltende Gläser um. Um Verunreinigungen zu verhindern, thaten wir noch eine weitere $^1/_2$-proz. Karbollösung hinzu. Nach 7 Tagen wurde das Invertin in der dialysierten, wie auch zur Kontrolle in der dialysierenden Flüssigkeit nachgesucht, und erhielten wir folgende Resultate:

---

1) S. l. c.
2) Jahresber. der Tierchemie. III. p. 160.
3) Ibidem. III. p. 168.
4) Fermi, Weitere Untersuchungen über die tryptischen Enzyme der Mikroorganismen. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XIV. 1892.)

Mikrobenart	Invertzuckerprobe in der dialysierenden Flüssigkeit	Invertzuckerprobe in der dialysierten Flüssigkeit
Weiße Hefe	positiv	negativ
Rosa "	"	"
Bierhefe	"	"
Aspergillus niger	"	positiv
Penicillium glaucum	"	"

Resultate. Nur für Aspergillus niger und Penicillium glaucum gäbe es einen Durchgang des invertierenden Enzyms durch Tiermembranen.

Schlußfolgerungen.

Aus allen bisher angestellten Untersuchungen können wir folgende Schlüsse ziehen:

1) Unter ca. 70 Mikrobenarten, mit welchen experimentiert wurde, üben in den gewöhnlichen mit Rohrzucker versetzten Bouillonkulturen eine invertierende Wirkung nur: Bac. Megaterium, Bacillus des Kieler Hafens, Proteus vulgaris, Bac. fluorescens liquef., weiße Hefe, Rosa-Hefe; eine unbeständige: die Choleravibrionen und Vibrio Metschnikovii aus.

2) Wenn die Reaktion der mit Rohrzucker versetzten Bouillon sich ändert, verlieren einige der genannten Mikroben ihre Eigenschaften. In durch Zusatz von Magnesiumoxyd übermäßig alkalischer gezuckerter Bouillon verlieren ihr Inversionsvermögen: Bac. fluor. liquef., Proteus vulgaris und Rosa-Hefe; sehr verringert wird das von der weißen Hefe und unbeständig bleibt immer das der beiden oben genannten Spirillen. In leicht sauer gezuckerter Bouillon dagegen behalten alle Mikroben, mit Ausnahme des Vibrio Metschnikovii und einiger Bakterienarten, ihr Inversionsvermögen bei.

3) Die Produktion von Invertin findet nicht nur bei Vorhandensein von Zucker, sondern auch in nicht gezuckerter, mit Glycerin vermengter Bouillon statt.

4) In peptonisierter, kein Glycerin enthaltender oder in Traubenzucker enthaltender Bouillon fällt die Produktion von Invertin beim Bacillus des Kieler Hafens und Bac. fluor. liquef. aus; und ist unbeständig bei Megaterium und weißer Hefe.

5) Der Beginn der Produktion des Invertins ist je nach den Nährsubstraten und den Mikrobenarten verschieden. Das erste Erscheinen haben wir gewöhnlich 2—3 Tage nach der Einimpfung, manchmal aber, wie beim Bacillus des Kieler Hafens, in gezuckerter und bei Proteus vulgaris in glycerinhaltiger Bouillon, schon nach 24 Stunden; manches andere Mal jedoch, wie bei den Hefearten, in einfacher oder gezuckerter Bouillon, erst nach 8 oder 9 Tagen beobachtet. Das Erscheinen des Enzyms findet gewöhnlich in der glycerinhaltigen Bouillon eher als in der gezuckerten statt, mit Ausnahme des Kieler Bacillus und der Spaltpilze, bei welchen das Gegenteil geschieht. Endlich ist die Thatsache hervorzuheben, daß in Kulturen in gezuckerter Bouillon am 1. und 2. Tage kein Invertzucker, aber doch aktives Invertin

nachzuweisen ist. In diesem Falle hat entweder das Invertin keine nachweisbare Zuckerquantität invertiert oder man muß an ein unreifes Invertin, an ein pyogenes Ferment denken.

6) Die Mikroben bilden auch auf eiweißfreien Substraten Invertin. In einer Nährsalzlösung mit Glycerin produzieren sie sämtlich Invertin, mit Ausnahme des Kieler Bacillus und Proteus vulgaris (letzterer unbeständig). Solches findet auch in einer Nährsalzlösung mit Rohrzucker statt, mit Ausnahme des Proteus vulgaris. In einer reinen 5-proz. Glycerin- oder Rohrzuckerlösung bilden nur Aspergillus niger und Penicillium glaucum Invertin.

7) In der Inversion des Zuckers seitens der Mikroben kann man immer die Aktivität eines löslichen Enzyms nachweisen, und ist wahrscheinlich diesem allein die Inversion zuzuschreiben.

8) Die Quantität des produzierten Invertins und dessen Aktivität ist bei den Spaltpilzen größer als bei den Schistomyceten.

9) Mittels der Wärme kann man die Invertinproduktion verringern oder aufheben, das Inversionsvermögen einiger Mikroben auch auf mehrere Generationen verringern oder zerstören. Dieses Vermögen wird beim Proteus vulgaris gänzlich aufgehoben, während bei Rosa-Hefe und dem Bacillus des Kieler Hafens nur eine Verringerung desselben stattfindet.

10) Die zur Zerstörung des Invertins der verschiedenen Mikroben notwendige Temperatur ist je nach der Mikrobenart verschieden. Das Invertin der Spaltpilze widersteht bei 100° noch über eine Stunde lang.

11) Das in Wirkung begriffene, d. h. das mit Rohrzucker vermischte Invertin ist der Wärme wie anderen Agentien gegenüber widerstandsfähiger.

12) Das in den Kulturen der verschiedenen Mikroben enthaltene Enzym ist den Säuren und Alkalien gegenüber sehr sensibel. Das Invertin der Hyphomyceten ist am widerstandsfähigsten. Die anorganischen Säuren sind schädlicher als die organischen. Unter den Alkalien, mit welchen experimentiert wurde, ist Kali das schädlichste.

13) Unter den verschiedenen mit Inversionsvermögen versehenen Mikrobenarten ist für Aspergillus niger und noch mehr für Penicillium glaucum ein Durchgang des Enzyms durch die tierischen Membranen nachzuweisen.

13. Mai 1895.

Ueber die Förderung der Pilzsporenkeimung durch Kälte.

Von

Prof. Dr. **Jakob Eriksson**

in

Stockholm.

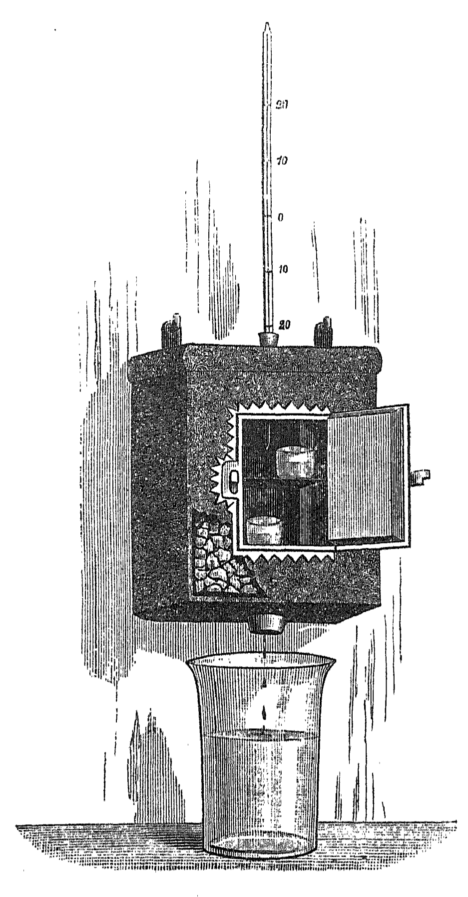
Mit 1 Figur.

Bei den wiederholten und zahlreichen Versuchen, die in den Jahren 1891—93 auf dem Experimentalfältet der Kgl. Schwedischen Landbau-Akademie ausgeführt wurden, um die Uredosporen des Weizen-Gelbrostes (Puccinia glumarum [Schm.] Eriks. und Hen., f. sp. Tritici) zum Keimen zu bringen, ergab sich, daß diese Sporen, obgleich scheinbar lebenskräftig, in der That relativ selten zur Keimung gelangten. Mochten die Sporen aus alten oder aus jungen Uredohäufchen genommen, mochten sie in reines Wasser oder in eine Nährflüssigkeit, wie z. B. in ein Dekokt aus Weizenblättern, aus Erde oder dgl. gebracht sein, in den meisten Fällen blieben sie unverändert, ohne zu keimen, auch wenn sie mehrere, ja 4—5, Tage lang im Keimungsgefäße lagen. Waren diese Sporen wirklich tot oder schlummerten sie nur? Und wenn letzteres der Fall war, was konnte ihre schlummernde Keimfähigkeit ins Leben rufen? Dies sind Fragen, die sich im Laufe der Zeit mehrmals einstellten.

Erst im Sommer 1893 fiel es mir ein, ein bis dahin noch unversuchtes Erweckungsmittel zu probieren. Es zieht sich von der ältesten bis zur neuesten Zeit durch die Litteratur eine Angabe, daß große und plötzliche Schwankungen der Temperatur die Verbreitung des Rostes befördern sollten. Wenn man darüber nachgedacht hat, woher das herrühren möge, so ist man gewöhnlich zu dem Schlusse gelangt, daß durch den Wechsel kälter Nächte und heißer Tage eine reichliche Taubildung eintrete, und daß damit eine der wichtigsten Bedingungen einer eintreffenden Sporenkeimung, die unerläßliche Feuchtigkeit, zustande gekommen sei. Die Erfahrung hatte indessen gelehrt, daß die Sporen auch dann nicht zum Keimen gebracht werden konnten, wenn sie mehrere Tage hindurch dem Einflusse des Wassers ausgesetzt wurden, auf ihrer Oberfläche schwimmend. Das Wasser selbst war es also nicht, was die erweckende Wirkung hatte. Sollte es vielleicht die Kälte an sich gewesen sein? Zur Entscheidung dieser Frage wurden im Spätsommer 1893 einige Versuche angestellt, teils mit Sporen von Uredo glumarum, teils mit solchen von Aecidium Berberidis. Das Resultat war überraschend, indem Sporen, die entweder gar nicht oder nur spärlich im Wasser von Zimmertemperatur (+ 15 bis + 25°) keimten, mehr oder weniger reichlich und schnell auskeimten, wenn das Keimungswasser eine oder zwei Stunden lang bis in die

Nähe des Nullpunktes abgekühlt wurde. In dem ausführlichen, jetzt dem Druck übergebenen Berichte der in den Jahren 1890—93 ausgeführten Rostuntersuchung ist eine Anzahl derartiger Versuche besprochen, und einige derselben sind in der vorläufigen Mitteilung über diese Untersuchung veröffentlicht worden[1]).

Es ist jedoch offenbar, wie auch in der genannten Mitteilung hervorgehoben worden, daß mit den wenigen im Spätsommer 1893 zur Ausführung gelangten Versuchen die Frage von der erwähnten Erscheinung nach ihrer rechten Natur und Bedeutung im Haushalte des Pilzes keineswegs endgültig erforscht worden war. Die damals vorliegenden Beobachtungen forderten dringend zu neuen Untersuchungen auf. Von solchen sind auch einige im letztvergangenen Sommer 1894 zur Ausführung gelangt, wodurch die Kenntnis von der Gültigkeit der keimungsfördernden Kältewirkung gewissermaßen erweitert worden ist. Die Versuche wurden variiert. Bald wurden die Sporen in dem Keimungsgefäß, einem mit Wasser gefüllten Glasschälchen, auf die Wasserfläche umhergestreut und das Gefäß einige Stunden lang auf einen ausgesägten Eisbloch mit ebener horizontaler Oberfläche gestellt, um dann wieder der Zimmertemperatur ausgesetzt zu werden. Bald wurden die Sporen direkt auf ein kleineres Eisstück in einem Glasschälchen ausgeschüttet und nachher in dem Schmelzwasser zum Keimen liegen gelassen. Bald wurden die wassergefüllten Schälchen mit den darin ausgeschütteten Sporen in einen besonderen Gefrierschrank gestellt, wo die Temperatur auch unter Null gebracht werden konnte. Dieser aus Zinkblech mit doppelten Wänden gemachte Gefrierschrank (Fig. 1) war 30 cm hoch, 25 cm breit und 25 cm tief. Er war auf allen Seiten, die kleine doppel-



1) J. Eriksson und E. Henning: Die Hauptresultate einer neuen Untersuchung über die Getreideroste. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. 1894. p. 69—70, 201.)

wandige Thür ausgenommen, mit dickem Filze bekleidet. Zwischen den Doppelwänden der Schrankseiten befand sich die Kältemischung, Eis und Salz, und das schmelzende Wasser floß unten in einen Becher ab. Die Temperatur in diesem Schranke konnte bis auf — 12° heruntergebracht werden.

Eine Uebersicht der gewonnenen Resultate sieht man auf der Tabelle. Die Keimfähigkeit wird durch Ziffern ausgedrückt, wie folgt: 0 = keine, 1 = Spur von, 2 = sparsame, 3 = recht allgemeine und 4 = allgemeine Keimung.

Eine auffallende Steigerung der Keimfähigkeit zeigte sich also

- bei Aecidium Berberidis bei mäßiger Abkühlung (nicht unter 0°) in 7 Fällen (Ser. I, II, III, IX, X, XI, XIV) von 12, und bei starker Abkühlung (unter 0°) in 4 Fällen (Ser. VII, XII, XIII, XV) von 5;
- bei Peridermium Strobi bei mäßiger Abkühlung in sämtlichen 5 Fällen (Ser. XIX—XXIII);
- bei Uredo glumarum bei mäßiger Abkühlung in 5 Fällen (Ser. XXV, XXVII, XXVIII, XXIX, XXXIII) von 8, und bei starker Abkühlung in sämtlichen 4 Fällen (Ser. XXX—XXXIV), wovon jedoch 2 (Ser. XXXI, XXXII) nur teilweise, indem die abgekühlten Sporen wohl schneller keimten, aber in dem endlich erreichten Keimfähigkeitsgrade von den nicht abgekühlten übertroffen wurden; und
- bei Uredo coronata bei starker Abkühlung in 1 Falle (Ser. XXXIX) von 2.

Daß indessen nicht nur die Stärke der Abkühlung, sondern auch ihre Dauer von Bedeutung ist, kann man für ausgemacht halten, da in der Ser. XV mit Aecidium Berberidis von Mahonia die Keimfähigkeit der No. 34, die während 13 Stunden bis auf —8 à —11° abgekühlt war, nach 23 Stunden kaum den Grad 1 (d. h. Spur) erreichte, also wahrscheinlich durch die lange anhaltende Abkühlung beschädigt war, während eine andere Portion desselben Materials, die bis zu etwa denselben Kältegraden, aber nur 2 Stunden lang abgekühlt war (No. 33), gleichzeitig eine ziemlich allgemeine Keimung erreicht hatte.

Aus der mitgeteilten Tabelle geht aber zugleich hervor, daß die Abkühlung nicht immer, auch nicht bei den jetzt genannten Sporenformen, dieselbe erweckende Einwirkung hat, ja daß die Keimfähigkeit bisweilen von der niedrigen Temperatur vollständig unberührt zu sein scheint.

Beispiele der Art geben uns 4 Serien (IV, V, VI, VIII) mit Aecidium Berberidis und 1 Serie (XXVI) mit Uredo glumarum. Man könnte sich wohl denken, daß in diesen Fällen die Sporen aus irgend welchem Grunde ihre Keimfähigkeit verloren hätten und tot wären. Diese Annahme ist jedoch wenig wahrscheinlich, da sie sonst ganz frisch aussahen, sondern es könnte die trotz der Abkühlung noch immer schlechte Keimung eine Folge davon sein, daß dem vielleicht unter verschiedenen Umständen verschieden empfänglichen oder verschieden fordernden Materiale nicht das richtige Maß der

Abkühlungsversuche mit Aecidium- und Uredosporen 1894.

Serie-No.	Versuchs-No.	Einlegungs-Tag	Die Sporen: gelegt auf	abgekühlt bis C°	abgekühlt in Std.	Die Keimfähigkeit: nach Stunden	Grad	nach Stunden	Grad	nach Stunden	Grad
			A. Aecidium Berberidis.								
			a) von Berberis vulgaris.								
I	1	30.V.	Wasser (von Zimmertemperatur)	.	.	14	0[1])	23	1		
	2	„	Schmelzendes Eis	.	.	„	4	„	4		
II	3	6.VI.	Wasser	.	.	8	0	12	0	36	1
	4	„	„ auf Eisblock	.	.	„	2	„	3	„	3
III	5	7.VI.	Wasser	.	.	8	0	23	0	32	0
	6	„	„ auf Eisblock	+ 3°	3	„	0	„	1	„	1
IV	7	„	Wasser	.	.	7	1	20	2	48	2
	8	„	„ auf Eisblock	+ 4,5°	3	„	1	„	2	„	2
V	9	„	Wasser	.	.	7	0	20	0	72	1
	10	„	„ auf Eisblock	+ 4° b. + 5°	3	„	0	„	1	„	1
VI	11	„	Wasser	.	.	21	0	52	1	70	1
	12	„	„ auf Eisblock	+ 2° b. + 3°	3	„	0	„	1	„	1
VII	13	11.VI.	Wasser	.	.	18	1	24	1	44	1
	14	„	„ auf Eisblock	+ 4°	5	„	1	„	1	„	2
	15	„	Schmelzendes Eis	.	.	„	0	„	0	„	1
	16	„	Sporentragende Blätter von Kältemischung umgeben . .	—7° b. —8°	1	„	3	„	3	„	3
VIII	17	12.VI.	Wasser	.	.	23	0	54	1	72	1
	18	„	Schmelzendes Eis	.	.	„	1	„	1	„	1
IX	19	„	Wasser	.	.	„	1	54	2	72	2
	20	„	Schmelzendes Eis	.	.	„	3	„	3	„	3
X	21	26.VI.	Wasser	.	.	13	1				
	22	„	Schmelzendes Eis	.	.	„	4				
XI	23	„	Wasser	.	.	13	1				
	24	„	Schmelzendes Eis	.	.	„	4				
XII	25	3.VII.	Wasser	.	.	12	1	18	1		
	26	„	Schmelzendes Eis, teilweise im Gefrierschrank	—6°	1	„	2	„	3		
XIII	27	„	Wasser	.	.	23	1	29	2		
	28	„	„ im Gefrierschrank frierend	—6°	1	„	3	„	3		
			b) von Mahonia Aquifolium.								
XIV	29	3.VII.	Wasser	.		12	0	18	0		
	30	„	„ im Gefrierschrank frierend	—6°	1½	„	1	„	1		
	31	„	Schmelzendes Eis	.		„	1	„	2		

1) Es werden hier folgende Keimfähigkeitsgrade unterschieden: Null = keine, 1 = Spur, 2 = sparsame, 3 = recht allgemeine, 4 = allgemeine Keimung.

Serie No.	Versuchs-No.	Einlegungs-Tag	Die Sporen: gelegt auf	abgekühlt: bis C°	abgekühlt: in Std.	Die Keimfähigkeit: nach Stunden	Grad	nach Stunden	Grad	nach Stunden	Grad
XV	32	9.VII.	Wasser	.	.	14	1	17	1	23	1
	33	„	„ im Gefrierschrank frierend	—8°b.—10°	2	„	2	„	2	„	3
	34	„	Schmelzendes Eis, dann im Gefrierschrank	—8°b.—11°	13	„	0	„	0	„	1
			B. Aecidium Rhamni von Rhamnus cathartica.								
XVI	35	7.VI.	Wasser	.	.	5	2	7	3	19	3
	36	„	„ auf Eisblock	+5°	3	„	0	„	0	„	2
XVII	37	26.VI.	Wasser	.	.	13	4				
	38	„	Schmelzendes Eis	.	.	„	4				
			C. Aecidium Magelhaenicum von Berberis vulgaris.								
XVIII	39	7.VI.	Wasser	.	.	4	3	6	3	18	4
	40	„	„ auf Eisblock	+6°	3	„		„	3	„	4
			D. Peridermium Strobi von Pinus Strobus.								
XIX	41	18.V.	Wasser	.	.	23	0	50	0	75	0
	42	„	„ auf Eisblock	+5°b.+5,5°	3	„	1	„	1	„	1
XX	43	„	Wasser	.	.	24	0	48	0	72	0
	44	„	„ auf Eisblock	+6°b. 6,5°	3	„	1	„	1	„	1
XXI	45	21.V.	Wasser	.	.	5	0	22	1	55	1
	46	„	Schmelzendes Eis	.	.	„	0	„	3	„	4
XXII	47	22.V.	Wasser	.	.	13	0	24	1		
	48	„	Schmelzendes Eis	.	.	„	3	„	4		
XXIII	49	31.V.	Wasser	.	.	6	0	22	4		
	50	„	Schmelzendes Eis	.	.	„	3	„	4		
			E. Uredo glumarum a) von Triticum vulgare.								
XXIV	51	18.V.	Wasser	.	.	22	4				
	52	„	„ im Gefäß mit Eis umgeben	+3,5°b.+4,5°	$3^1/_2$	„	4				
XXV	53	22.V.	Wasser	.	.	13	0	24	0	46	0
	54	„	Schmelzendes Eis	.	.	„	2	„		„	
	55	„	„ „	.	.	„	2	„	2	„	3
XXVI	56	30.V.	Wasser	.	.	14	0	23	1		
	57	„	Schmelzendes Eis	.	.	„	1	„	1		
XXVII	58	6.VI.	Wasser	.	.	3	0	12	0	25	0
	59	„	Schmelzendes Eis	.	.	„	2	„	2	„	2
XXVIII	60	7.VI.	Wasser	.	.	8	0	20	1		
	61	„	„ auf Eisblock	+3,5°b.+4°	3	„	4	„	4		
XXIX	62	26.VI.	Wasser	.	.	12	1				
	63	„	Schmelzendes Eis	.	.	„	4				

Serie No.	Versuchs-No.	Einlegungs-Tag	Die Sporen gelegt auf	abgekühlt bis C°	abgekühlt in Std.	Die Keimfähigkeit nach Stunden	Grad	nach Stunden	Grad	nach Stunden	Grad
XXX	64	9. VI.	Wasser	.	.	14					
	65	,,	Eis im Gefrierschranke . . .	—8° b. —10°	5	,,					
			b) von Triticum caninum.								
XXXI	66	10. VIII	Wasser	.	.	16	1	24	1	42	4
	67	,,	Eis im Gefrierschranke . . .	—4,5° b. —10°	2	,,	2	,,	3	,,	3
XXXII	68	11. VIII	Wasser	.	.	7	0	24	3		
	69	,,	Eis im Gefrierschranke . . .	—2° b. —7°	2½	,,	2	,,	3		
XXXIII	70	15. VIII	Wasser	.	.	14	0	21	0		
	71	,,	Schmelzendes Eis	.	.	,,	3	,,	3		
			c) von Elymus arenarius.								
XXXIV	72	15. VIII	Wasser	.	.	6	0	26	1	42	1
	73	,,	Eis im Gefrierschranke . . .	— 8°	½	,,	1	,,	2	,,	2
XXXV	74	20. IX.	Wasser	.	.	3	1	17	4		
	75	,,	Schmelzendes Eis	.	.	,,	1	,,	4		
			F. Uredo Alchemillae von Alchemilla vulgaris.								
XXXVI	76	7. VI.	Wasser	.	.	6	0	18	1	42	2
	77	,,	,, auf Eisblock	.	.	,,	0	,,	2	,,	2
			G. Uredo graminis a) von Bromus secalinus.								
XXXVII	78	3. VII.	Wasser	.	.	2	0	13	4		
	79	,,	,, im Gefrierschranke . .	— 6°	1	,,	0	,,	4		
			b) von Triticum vulgare.								
XXXVIII	80	3. VII.	Wasser	.	.	2	0	13	3	19	4
	81	,,	,, im Gefrierschranke .	— 6°	1	,,	0	,,	3	,,	4
			H. Uredo coronata von Melica nutans.								
XXXIX	82	10. VIII	Wasser	.	.	16	1	25	3	42	4
	83	,,	,, im Gefrierschranke .	— 10°	2	,,	4	,,		,,	
XL	84	11. VIII	Wasser	.	.	7	3	24	4		
	85	,,	,, im Gefrierschranke .	—5° b. —7°	2	,,	3	,,	3		

Abkühlung zu teil geworden sei, oder davon, daß die niedrige Temperatur nicht für sich allein hinreichend sei, die Sporen in keimfähigen Zustand zu versetzen.

Fragt man, was wohl den wesentlichen Unterschied der Resultate zwischen denjenigen Versuchen, die mit Aecidium Berberidis am 6. Juli (Ser. III, IV, V, VI) mit schlechter Keimung auch nach Abkühlung ausgeführt wurden, und den am 30. Mai (Ser. I), am 6. Juni (Ser. II) und am 26. Juni (Ser. X, XI) mit schlechter Keimung ohne, aber guter nach Abkühlung ausgeführten erklären könnte, so fällt der Verdacht in erster Reihe auf die Witterungsverhältnisse der voraufgehenden Tage. Sieht man nun nach, wie diese gewesen sind, so erfährt man, daß dem 7. Juni 2 regenlose, meistens sonnige Tage vorhergingen, während dem 30. Mai 3 Regentage (der 29. Mai mit 0,2, der 28. Mai mit 13,7 und der 27. Mai mit 3,3 mm Regen), dem 6. Juni 1 Tag (der 5. Juni) ohne Regen und diesem 3 Tage mit Regen (der 4. Juni mit 3,3, der 3. Juni mit 1,3 und der 2. Juni mit 4,1 mm Regen) und endlich dem 26. Juni 2 Regentage (der 25. Juni mit 8,1 und der 24. Juni mit 7,7 mm Regen) vorangegangen waren. Die stets schlechte Keimung traf also nach vorausgehender Dürre, die durch Abkühlung erhöhte nach vorausgehender Nässe ein. Dagegen war die Minimaltemperatur der vorausgehenden Nächte wenig verschieden, indem die Nacht

vor dem 7. Juni ein Minimum von + 5,5°
„ „ 30. Mai „ „ „ + 3,5°
„ „ 6. Juni „ „ „ + 5,5°
„ „ 26. Juni „ „ „ + 6,5°

zeigte. Es scheint also, als ob eine Abkühlung von derjenigen Stärke und Dauer, die in den besprochenen Versuchen vorkamen, imstande sei, die Keimfähigkeit nur dann ins Leben zu rufen, wenn die Sporen durch eine vorhergehende Regenperiode für die Einwirkung der Kälte empfindlich gemacht worden sind, ganz so, wie die Samen gewisser höherer Pflanzen eine große Empfindlichkeit gegen Kälte zeigen, wenn sie gequollen sind, aber fast unempfindlich sind, wenn sie trocken abgekühlt werden. Leider liegen noch keine fortgesetzten und planmäßig verfolgten Versuche und Observationen vor, so daß man sicher entscheiden könnte, ob die versuchte Erklärung richtig ist oder nicht.

Obige Tabelle zeigt indessen auch Sporenformen, wie Aecidium Rhamni, Aec. Magelhaenicum und Uredo graminis, welche in der Regel ohne irgend welche Behandlung leicht keimen und auf deren Keimfähigkeit die Abkühlung also keine Einwirkung zeigen kann. Sie scheint hier entweder ohne Bedeutung zu sein (bei Uredo graminis) oder vielleicht einen scheinbar herabdrückenden Einfluß auszuüben, da die nicht abgekühlten Sporen nicht mehr Zeit zum Auskeimen brauchen, als die Abkühlung der abgekühlten Nummern beansprucht.

Es bleibt noch übrig, durch tägliche Beobachtungen im Freien während einer längeren Zeit des Sommers zu entscheiden, welche Bedeutung im Haushalte des Pilzes und der Natur den dort ein-

treffenden Temperatursenkungen, speziell den Nachtfrösten, zukommen könne, und inwiefern darin die Erklärung der schnellen und kräftigen Verbreitung der Getreideroste liege, welche man nach einem Wechsel kalter Nächte und heißer Tage beobachtet zu haben glaubt. Wie dem aber auch sei, aus den schon vorliegenden Laboratoriumsversuchen geht jedenfalls hervor, daß man sich die Einwirkung niedriger Temperaturgrade auf die Keimung der Pilzsporen nicht als eine unter allen Umständen herabdrückende oder tötende deuten darf, sondern daß sie in gewissen Fällen eine ganz entgegengesetzte sein kann, eine belebende. Man dürfte hier von einer lebensfördernden Kältewirkung (einem Kältereize) sprechen können.

Fragt man sich, ob eine derartige Kältewirkung aus anderen Gebieten des Pflanzenlebens bekannt ist, so fragt man in der That nicht ganz vergebens, wenn auch die Fälle, wo man eine solche gefunden oder vermutet hat, wenig zahlreiche, besonders aber in der Litteratur wenig beachtet sind. Reisende im hohen Norden und in den Alpen sprechen über die aufs äußerste beschleunigte Entwickelung der Blüten und Früchte ihr Erstaunen aus. Es ist eine wiederholte Erfahrung tüchtiger Gärtner, daß gewisse Pflanzen, wie z. B. Maiblumen-Rhizome, Kartoffelknollen u. s. w. früher und besser austreiben, wenn sie vorher einem mäßigen Froste ausgesetzt worden sind. Es liegen aber auch in der wissenschaftlichen Litteratur bestimmte Beobachtungen und Versuche vor, welche das Vorhandensein einer belebenden Kältewirkung sicherstellen. F. Krasan[1]) hat dieses für Zweige von Salix nigricans nach dem strengen Winter 1870/71 im Vergleiche mit dem nach dem milderen Winter 1872/73 nachgewiesen. Aus einigen in den Jahren 1876—77 von F. Haberlandt[2]) angeordneten Versuchen ging hervor, daß eine mehrtägige Abkühlung gequellter Leinsamen nicht nur ein schnelleres Keimen der Samen und ein früheres Blühen und Reifen der daraus erwachsenen Pflanzen, sondern auch eine Verlängerung derselben um 39—44,8 Proz. bewirkte. B. Frank[3]) konstatierte 1883, daß eine Anzahl Treibhölzer, die im vorhergehenden Winter den Wirkungen des Frostes ausgesetzt waren, eher trieben, als die im frostfreien Keller aufbewahrten. Im Jahre 1884 beobachtete H. Müller-Thurgau[4]), daß Kartoffelknollen, die auf Eis gelegt waren, früher auswuchsen und hübschere Ernte ergaben, als die auf frostfreiem Platze aufbewahrten.

---

1) F. Krasan, Beiträge zur Kenntnis des Wachstums der Pflanzen. III. Salix nigricans. (Sitzungsberichte der k. Akademie der Wissenschaften in Wien. Bd. LXVII. Abt. I. p. 19—20.) Noch einige ähnliche Erfahrungen bespricht L. Kny in seinem Aufsatze: Ueber Versuche zur Beantwortung der Frage, ob der auf Samen einwirkende Frost die Entwickelung der aus ihnen hervorgehenden Pflanzen beeinflusst. (Sitz.-Ber. d. Ges. Naturf. Fr. Berlin 1887. 15. Nov. p. 195 etc.)

2) F. Haberlandt, Ueber den Einfluß des Frostes auf gequollene Leinsamen und die daraus gezogenen Leinpflanzen. (Die landwirtsch. Vers.-Stat. Bd. XXI. 1878. p. 357.)

3) Verhandl. des Vereins zur Bef. des Gartenbaues in dem preuß. Staate. (Gartenzeitung. 1883. p. 26.)

4) H. Müller-Thurgau, Beitrag zur Erklärung der Ruheperioden der Pflanzen. (Landw. Jahrb. 1885. p. 883.)

Durch die hier oben beschriebenen Resultate einiger Versuche mit Aecidium- und Uredosporen[1]) ist ein neuer solcher Fall zu unserer Kenntnis gekommen, der gut geeignet ist, der theoretisch wie praktisch interessanten und wichtigen Frage über die Einwirkung der Kälte auf das Pflanzenleben eine neue und wohlverdiente Aufmerksamkeit zuzuziehen.

24. Mai 1895.

Sakébrauerei und Pilzverzuckerung.

Eine geschichtlich-kritische Studie.

Von

Dr. C. Wehmer.

Der japanische Kojipilz, mittels dessen man in seiner Heimat in umfangreicher Weise die Verzuckerung stärkemehlhaltiger Materialien bewirkt, hat durch die neueren Versuche seiner Einführung in das nordamerikanische Brennereiwesen ein etwas allgemeineres Interesse erregt. Bereits seit dem Ende der siebenziger Jahre liegt eine stattliche Reihe von Publikationen vor, welche sich sowohl mit den morphologischen und physiologischen Merkmalen desselben wie auch mit seiner näheren Beziehung zum eigentlichen Gärungsprozesse mehr oder weniger ausführlich beschäftigen. Bezüglich des letzteren Punktes herrscht noch bis zur Zeit keine vollständige Klarheit und wenn es schon dieserhalb nicht ohne Interesse ist, einen kurzen Rückblick auf das Verfahren selbst, wie auch die gesamte einschlägige Litteratur zu werfen, so lohnt das vielleicht um so mehr, als gelegentlich in einigen späteren Publikationen auf Grund mangelnder Berücksichtigung der älteren Angaben eine etwas schiefe Darstellung Platz zu greifen scheint.

Die älteste ausführliche Arbeit über die Sakébrauerei rührt — nachdem ihr eine kürzere Mitteilung von Hoffmann[2]) vorausgegangen — von Korschelt[3]) her, und in ihr finden wir auch die erste Beschreibung und Benennung des fraglichen Pilzes, welche auf Korschelt's Veranlassung von Seiten Ahlburg's ausgeführt wurde. Daß der von diesem gewählte Name (Eurotium Oryzae) unmotiviert und die Beschreibung etwas unklar, ist hier für uns von keinem Belang, denn uns intressieren nur die näheren Angaben Korschelt's über die praktische Seite des Verfahrens, sowie seine

1) Eine andere Sache ist es mit den im Winter ruhenden Teleutosporen. Zum Erwecken ihrer Keimfähigkeit scheint die Kälte nicht für sich allein hinreichend zu sein, sondern es spielt dabei ein abwechselndes Einfrieren und Aufthauen im Freien als notwendig mit. (Vergl. J. Eriksson und E. Henning, a. a. O. p. 68.)

2) Mitteilungen der Deutsch. Gesellsch. f. Natur- und Völkerkunde Ostasiens. Heft 6.

3) Ebendaselbst. Heft 16. 1876. p. 240 u. f. sowie wieder abgedruckt in Dingler's Polytechn. Journal. 1878. Bd. CCXX. p. 330 u. f. („Ueber Saké, das alkoholische Getränk der Japaner.“)

Stellung zur Gärungsfrage. Von nicht wenigen späteren Autoren ist die verdienstvolle Arbeit dieses Autors so gut wie vollständig übersehen worden; andere beschränken sich, ohne nähere Kenntnis von ihr genommen zu haben, auf das übliche Citat. Das Wesentliche möge also in Folgendem zunächst kurz hervorgehoben werden.

Nach dem auf Grund eigner Anschauung und Versuche schildernden Verfasser zerfällt die Sakébereitung in 4 Abschnitte, von denen wir zwei als vorbereitender Art bezeichnen können (Darstellung von „Koji‘ und „Moto“); an sie schließt sich der Hauptprozeß (die eigentliche Gärung), dem dann als 4. Phase das Pressen und Klären folgt.‘ Der ganze Vorgang wird in wenigen Monaten (November bis Februar) zu Ende geführt, die wärmere Jahreszeit setzt den Arbeiten Schwierigkeiten in den Weg.

Das Koji ist nur Ausgangsmaterial für die zwei folgenden Phasen und ist an sich nichts weiter, als von den Fäden und Sporenträgern unseres Pilzes umwachsener (und durchdrungener) Reis; man gewinnt es durch Aussaat der Pilzsporen („Tane Koji“, ein gelbes bis gelbgrünes Pulver) auf entsprechend vorbereitete (gedämpfte) Reiskörner und Wachsenlassen bei einer etwas höheren Temperatur (20—25 ° C) — wenigstens ist das das Wesentliche des Verfahrens, bei dem ungefähr 1 Volumen Sporen 40000 Vol. Reis in Koji verwandeln. Der Prozeß vollzieht sich in wenigen Tagen; sein Ziel ist die Gewinnung eines reichlichen Pilzmycels (als des Erzeugers der Diastase) ohne sporenbildende Organe, sofern man nicht gerade die Erzeugung von „Tane Koji“ mit im Auge hat.

Bei der Erzeugung des „Moto“ geht man wiederum vom gedämpften Reis aus, welcher mit Wasser und Koji zu einem dicken Brei verrührt wird. Nach öfterem Durcharbeiten beginnt derselbe nach einigen Tagen sich zu verflüssigen: Die Stärke geht in Zucker über, und zwar infolge der Wirkung der aus den Pilzhyphen in das Medium tretenden Diastase [1]). Die bei der Verzuckerung eingehaltene Temperatur liegt wenige Grad über Null; höhere Wärmegrade sind offenbar in Hinblick auf die Gefahr der Spaltpilzinfektion (alle Operationen werden ohne besondere Vorsichtsmaßregeln an freier Luft ausgeführt, mehrfach auch die Hände zum mechanischen Durcharbeiten der Masse benutzt!) streng zu vermeiden, obschon die Pilzdiastase (wie Korschelt zeigte) ihr Wirkungsoptimum bei einer der Malzdiastase ähnlichen Temperatur hat. Während dieses Verzuckerungsprozesses tritt nun spontan und ganz allmählich die Gärung ein, welche langsam zunimmt, während die Temperatur der Maische ebenso langsam künstlich gesteigert wird (ca. 20 ° C.) und endlich zum guten Teil infolge der intensiv werdenden Gärung, bis auf 30 und 35° C steigt. Nach ca. 14 Tagen ist sie beendet (gerechnet vom ersten schwachen Beginn ab, die Hauptgärung dauert 2 Tage) und der Moto fertig. Dieser stellt eine alkoholische (noch zuckerhaltige), säuerliche (= Milchsäure), hefehaltige Flüssigkeit dar.

1) Korschelt nannte dieselbe „Eurotin“ und Kellner bezeichnete sie als „Invertase“ (s. unten). Ob ein Gemenge verschiedener Enzyme vorliegt, wurde noch nicht untersucht. Es handelt sich jedenfalls um eine Ueberführung der Stärke in Maltose und Weiterveränderung in Dextrose.

Während somit im Koji die Diastase zur Verzuckerung der Maische gegeben ist, enthält der Moto die Hefe zur Einleitung der alkoholischen Gärung im Hauptprozesse. Damit kann dann die eigentliche Sakédarstellung beginnen, über die ich mich jedoch kurz fassen kann.

Es wiederholt sich jetzt eigentlich nur dass, was hier in zwei Phasen geschildert wurde, in etwas größeren Verhältnissen in einer einzigen, das heißt, es wird der gedämpfte Reis mit Koji, Moto und Wasser zu einem Brei verrührt und diese Masse, der noch weiterhin Koji, Reis und Wasser zugefügt wurden, in Gärbottichen bei gewöhnlicher Temperatur (die auf einige 20° ansteigen kann, sonst 10—15° C) sich selbst überlassen. Hier findet jetzt Verzuckerung neben Gärung statt und nach ungefähr 2 Wochen erreicht der Vorgang sein Ende.

Nach 38 Tagen des ganzen Prozesses beginnt dann das Auspressen der vergorenen, gegebenenfalls noch eine Nachgärung durchmachenden Flüssigkeit, deren Rückstände auf Alkohol verarbeitet werden. Auf weitere Einzelheiten, die von Korschelt (überall mit Zahlenbelegen) ausführlich geschildert werden, brauchen wir hier nicht einzugehen, wie denn auch in obigem nur die Hauptzüge des Verfahrens berührt wurden. —

Im zweiten Teile seiner Mitteilungen erörtert derselbe alsdann die Wirkung des Pilzfermentes und berichtet über eine Reihe von Analysen des Moto und der Gärbottiche in den verschiedenen Stadien des Verfahrens, woraus sich einmal eine fortdauernde Auflösung der Stärke während des Motoprozesses (auch noch während der Gärung), und weiterhin ein definitiv fast vollständiges Inlösunggehen derselben ergiebt. In den Saké-Maischen selbst hat das so gut wie ohne Rest statt. Die Alkoholbestimmungen ergaben hier bis rund 15 %, somit einen recht beträchtlichen Wert.

Man ersieht aus diesen Darlegungen bereits, daß spätere Publikationen — und die Zahl der sich für den eigenartigen Pilz Interessierenden ist keine ganz geringe — prinzipiell Neues über das Verfahren kaum noch bringen können; es ist an ihm so ziemlich alles bis ins kleinste beschrieben, und die etwaigen Ergänzungen beziehen sich nur auf weiter abliegende Punkte (botanische Natur des Pilzes, Charakter der Diastase, des gebildeten Zuckers, Art der Hefe), die mit demselben an sich näheres nicht zu schaffen haben. Chemikern und Botanikern, speziell Mykologen, boten diese aber immerhin noch dankbare Arbeit, und so sehen wir sie denn auch in weiterer Folge die fraglichen Momente mit mehr oder weniger Glück aufnehmen.

Uns interessiert hier zunächst die den eigentlichen Gärungsprozeß hervorrufende Hefe, zumal sie — wie das neuerdings noch wiederholt hervorgehoben wurde — die Eigentümlichkeit besitzen sollte, mehr als 15 % Alkohol zu erzeugen, worauf im übrigen wiederum auch Korschelt bereits hinwies. Es wäre nun bei der ganzen Art seiner Behandlungsweise des Themas, die von ebensolcher Gründlichkeit wie guter Beobachtung zeugt, fast auffallend, wenn er auch diesen Punkt nicht bereits in die Diskussion gezogen hätte; er läßt ihm sogar eine sehr eingehende Behandlung zu teil werden und erwägt dementsprechend auch die überhaupt möglichen Fälle.

Die im „Moto“ sich bildende Hefe könnte in denselben mit dem „Koji“ eingeführt werden, doch steht dem entgegen, daß durch das fünfstündige Dämpfen alle auf dem Reis befindlichen fremden Organismen getötet werden und die zur Aussaat benutzten Sporen (Tane Koji) des Reispilzes ein mikroskopisch reines Pulver darstellen. Zweitens könnte sie aus der Luft in die Moto-Maische gelangen, und drittens wäre es denkbar, daß sie auf den Aspergillus selbst zurückzuführen sei, indem etwa das Mycel in Hefezellen zerfällt, welche, wie wir das ähnlich von andern Fällen (Mucorineen etc.) wissen, nunmehr unter Vermehrung durch Sprossung reichlich Alkohol produzieren.

Es ist also dieser letztere auch von Takamine als thatsächlich stattfindend angegebene Prozeß bereits an dieser Stelle diskutiert, und zwar entscheidet sich Korschelt für diese Annahme, indem er hinzufügt, daß er allerdings einen exakten Beweis für dieselbe nicht liefern könne, obschon eine Reihe näher dargelegter Gründe dafür sprächen.

Inwieweit diese stichhaltig, soll hier nicht weiter untersucht werden, doch sei beiläufig bemerkt, daß der Verf. auch eine nähere Beschreibung der Hefe liefert, der zufolge ihre Zellen jenen der Brauereihefe ziemlich ähnlich sind, auf Bierwürze jedoch nur schwach einwirkten.

Fassen wir also die gesamten Angaben kurz zusammen, so ergiebt sich, daß ein der näheren Beschreibung noch bedürftiger Pilz (dessen Konidienträger übrigens denen des Eurotium glaucum gleichen) durch die Erzeugung einer sehr wirksamen (von der des Gerstenmalzes verschiedenen) Diastase („Eurotin“) die Verzuckerung des Reises, und möglicherweise auch durch Erzeugung einer Alkoholhefe die Vergärung der Maische bewirkt. Unter diesem Gesichtspunkte werden die einzelnen Phasen der Saké-Brauerei wohl verständlich und von ihm werden sie geleitet: Die vorbereitenden Prozesse zielen auf die Gewinnung einerseits von Pilz-Malz (oder richtiger Pilz-Diastase), andererseits von Hefe hin, während das Hauptverfahren eine Vergärung der zuckerreichen, aus gedämpftem Reise bereiteten Maische darstellt. Eine von irgendwelchen Unklarheiten freie, sorgfältige Darlegung dieser Verhältnisse gegeben zu haben, ist das Verdienst der Korschelt'schen Arbeit, und es ist das um so mehr hervorzuheben, als es späterhin fast ganz in Vergessenheit geraten ist, und gelegentlich statt der eigentlichen Quelle für diesen oder jenen Punkt Gewährsmänner citiert werden, die selbst aus dieser geschöpft haben. Die ausdrückliche Feststellung des Sachverhaltes an diesem Orte scheint im Interesse der geschichtlichen Wahrheit angezeigt. —

Gehen wir in der den Reisaspergillus und seine Wirkung betreffenden Litteratur nun einen Schritt weiter und gedenken auch der späteren Arbeiten. Es soll das in kürzerer Weise geschehen, zumal die praktische Seite des ganzen, soweit sie allgemeineres Interesse hat, so ziemlich erschöpft ist. Insbesondere bleiben uns aber noch die oben genannten drei Punkte zu berühren, bezüglich derer zufolge der bisherigen Angaben die Akten jedenfalls noch nicht

geschlossen sind. Zunächst sei bemerkt, daß eine weitere ausführliche Arbeit über die Saké-Brauerei einige Jahre später von Atkinson[1]) erschien, die ich hier, da sie in der Hauptsache sich mit uns bereits Bekanntem beschäftigt, nur kurz erwähne. Sie ist im ganzen bekannter geworden als die erstgenannte und einzelnes aus den Untersuchungen Atkinson's findet man auch gelegentlich von anderen Autoren als Beleg für dies oder jenes citiert. Von chemischer Seite wurde dann weiterhin noch speziell der Diastasenatur unseres Pilzes näher getreten und darüber ausführlich von O. Kellner, Mori und Nagaoka[2]) berichtet; die bereits in die neuere Zeit fallende Arbeit ist bekannt und soll hier, da unten noch darauf zurückkommen ist, in ihren Einzelheiten nicht erörtert werden.

Trotz der manchen Anregungen, welche den Botanikern resp. Mykologen durch die chemisch-physiologischen Forschungen gegeben wurden, verhielt man sich auf dieser Seite im ganzen ziemlich passiv und über die Mitte der 80er Jahre hinaus ging der Pilz in systematischen Werken noch immer unter dem alten unmotivierten Namen und fast ohne jede nähere Beschreibung. Allerdings hatte F. Cohn[3]) bei Gelegenheit einiger in Breslau gemachten Mitteilungen über die Sakéfabrikation ihm endlich seinen richtigen Namen gegeben (Aspergillus Oryzae) und Büsgen[4]) hatte eine kurze Beschreibung geliefert, ohne daß jedoch Ausführliches hinzukam, denn die auf morphologische Verhältnisse sich beziehenden Angaben beider gehen über den Raum weniger Zeilen nicht hinaus. Es wurde jedoch ein Punkt der Korschelt'schen Auffassung hier bestritten, der für uns von Interesse ist, und das war der Ursprung der Hefe, welche als nicht dem Aspergillus angehörig betrachtet wird, sondern aus der Luft stammen, somit irgend eine beliebige Saccharomycesart oder -rasse sein soll. Besondere Untersuchungen, wie sie zur Erledigung dieser Frage notwendig sind, sind aber offenbar von keinem der beiden Autoren angestellt, und wenn die Thatsache auch an sich nicht unwahrscheinlich ist, so genügt doch insbesondere die kurze Behauptung Büsgen's nicht, sie zu beweisen. Es wird hier weder des Aussehens der Hefe besondere Erwähnung gethan, bez. dasselbe näher erörtert, noch gezeigt, daß Hyphen des Pilzes zur Bildung von Sproßzellen unfähig sind, vielmehr dieser Möglichkeit nur kurz widersprochen.

Da also auch bezüglich dieses Punktes Neues einstweilen nicht hinzukam, so stand man Ende der achtziger Jahre immer noch vor der Thatsache, daß ein physiologisch gut studierter Pilz von hervorragend praktischer Bedeutung in morphologischer Beziehung so wenig charakterisiert war, daß eine Unterscheidung von ähnlichen Formen unthunlich erschien. —

---

1) „The chemistry of Saké-brewing in Japan." Tokio 1881; ähnliche Mitteilungen desselben auch noch an andern Orten.

2) „Beiträge zur Kenntnis der invertierenden Fermente." (Zeitschrift f. physiolog. Chemie. Bd. XIV. 1890. p. 293.)

3) „Schimmelpilze als Gärungserreger." (Jahresber. d. Schlesisch. Ges. f. vaterl. Kultur. Bd. LXI. 1883. p. 226 u. f.)

4) „Aspergillus Oryzae." (Ber. d. D. Botan. Ges. 1885. Generalversammlungs-H. p. 66 u. f.)

Wir treten damit in die neueste Litteratur und die Zeit, wo der Pilz und das Verzuckerungsverfahren eine technische Bedeutung auch in außerasiatischen Ländern zu erlangen verspricht, und im wesentlichen entstehen auch — ohne Neues von Belang zu bringen — unter ihrem Einflusse die weiteren Litteraturangaben.

Den Anstoß hierzu gab ein im Jahre 1889 von dem Japaner Takamine genommenes amerikanisches Patent [1]), demzufolge durch Gärung Flüssigkeiten mit 15—18 % Alkohol gewonnen werden sollten, und zwar durch ein Verfahren, welches in allen wesentlichen Zügen mit dem oben Dargelegten übereinstimmt. Es handelte sich also um die Herstellung von Koji und Moto und weiterhin um Verzuckerung und Vergärung irgend welcher Maischen, insbesondere für Brennereizwecke. Das ist also die Einführung des Jahrhunderte alten japanischen Verfahrens in das nordamerikanische Brauwesen. Aus den Darlegungen Takamine's ergiebt sich als für uns von Interesse, daß er bezüglich der Hefe der gleichen Meinung wie Korschelt ist, dieselbe also als eine Aspergillus-Hefe betrachtet [2]). Auf alle Fälle sichert derselbe seine Ansprüche aber noch dadurch, daß er zwecks Vergärung der Maische auch die Verwendung von Saccharomyces-Hefe für statthaft und zweckmäßig erklärt [3]) — eine etwaige Verbesserung des Verfahrens, die gleichfalls schon von Korschelt erörtert wurde. Wesentlich Neues findet man also in dem Patente nicht, zumal der Pilz auch in Japan speziell zur Alkoholgewinnung sowie einigen andern gewerblichen Zwecken dient und der eigentliche Ursprung der Hefe auch von Takamine noch nicht einwurfsfrei dargelegt wird. Das von der „Takamine-Ferment Compagnie" unter Leitung des Patentinhabers ausgeübte, unten noch mit einigen Worten zu berührende Verfahren ist dann auch in einer größeren Brennerei Peorias eingeführt worden.

Unter dem Eindrucke dieses alsbald in die Tagespresse übergehenden Ereignisses erschien nun in der Folge eine ganze Reihe von kürzeren oder längeren Notizen in technisch-chemischen Tageszeitschriften, die mit einigen Ausnahmen eine im ganzen wenig zutreffende Darstellung der ganzen Sachlage gaben, und zum Teil vollständig übersahen, daß alle Punkte des „Takamine-Verfahrens" — soweit es sich nicht um einige technische Besonderheiten handelte — längst bekannt und beschrieben waren. So wurde u. a. auch in einigen amerikanischen, englischen etc. Fachzeitschriften geradezu die ganze bisherige Litteratur ignoriert, und die gesamten Verdienste um Aufklärung des Pilzes und seiner Wirkung auf Takamine übertragen. Demgegenüber wird man ermessen, inwieweit ein näheres Eingehen auf die Korschelt'schen Angaben berechtigt war, wenn nicht eine völlige Trübung des wirklichen Sachverhalts Platz greifen soll.

---

1) Nr. 411 231. — Auch ein deutsches (Nr. 79 763) erhielt derselbe 1891.

2) Im übrigen ist natürlich ein „Hefe" bildender Apergillus etwas ebensowenig Befremdendes, wie ein gleicher Mucor oder eine Reihe anderer Formen mit der gleichen Eigentümlichkeit der Sproßzellbildung, deren eine hinreichende Zahl bereits bekannt ist. (Vergl. die Zusammenstellung bei Zopf, „Pilze". p. 7.)

3) Dies Verfahren wurde jedenfalls späterhin auch von demselben eingeschlagen (vergl. unten). Die deutsche Patentbeschreibung ist übrigens nicht ganz klar.

Von den deutschen Publikationen, Berichten etc. seien hier nur einige und davon zunächst die Mitteilung von Ikuta [1]), welche bezüglich der Sakébereitung bloß in kurzen Zügen einen Teil der Korschelt'schen Ausführungen wiederholt, erwähnt. Es motiviert sich diese Erwähnung eigentlich nur damit, daß der sachlich thatsächlich ziemlich bedeutungslose kurze Aufsatz in der Litteratur unzutreffenderweise gelegentlich selbst als „Untersuchung" registriert wurde, denn Ikuta sind nicht bloß die bisherigen Arbeiten unbekannt (er negiert sogar das Vorliegen solcher), sondern er weiß auch über den systematisch schon bekannten Pilz nichts anderes zu sagen, als daß derselbe „eine Art Hefe" sei, und steht, wie auch aus einigen andern Bemerkungen hervorgeht, dem ganzen Verfahren ziemlich fremd gegenüber. Es kann kaum zweifelhaft sein, daß der Verf. die Anregung für seine Mitteilung aus der Takamine'schen Patentschrift, bez. einem Bericht über diese empfangen hat, und der Wiederholung der Hauptpunkte einige persönliche Erinnerungen hinzufügt.

Ueber das amerikanische Patent berichtete dann Schrohe [2]) etwas ausführlicher und forderte gleichzeitig zu ähnlichen Versuchen bei uns auf. Gleichzeitig wies derselbe mit Recht darauf hin, daß nach allem, was schon über den Pilz und seine besondere Eigentümlichkeit bekannt sei, von einer „Erfindung" Takamine's keine Rede sein kann; wenn derselbe endgiltig allerdings auch noch die Angaben Ikuta's citiert, so übersah er dabei, daß dieser offenbar selbst erst aus den amerikanischen Berichten schöpfte. Gegenüber Schrohe, welcher entsprechend den referierten Angaben Takamine's die Hefe von dem Pilze selbst ableitete, bemerkte dann Liebscher [3]), daß von F. Cohn und Büsgen gezeigt sei, der Kojipilz verzuckere die Stärke, aber vergäre die Maische nicht und die Hefe stamme aus der Luft. Das ist nach obigem in doppelter Beziehung unzutreffend, denn einmal war das Verzuckerungsvermögen des Pilzes — wie auch Schrohe ganz richtig angab — längst bekannt (Korschelt), so daß es also von späteren Untersuchern nur wiederholt studiert werden konnte, und weiterhin ist von keinem der beiden aufgenannten Forscher die zweite der angegebenen Thatsachen „nachgewiesen", sondern ohne nähere Beweise nur als wahrscheinlich hingestellt; das hat aber auch Korschelt bereits erwogen, und hier liegt ja eben der streitige Punkt [4]). Als Unterlage für eine Kritik der amerikanischen Angaben war also diese Arbeit und

---

1) Chemiker Zeitung. 1890. No. 27. p. 448.

2) Zeitschrift f. Spiritusindustrie. 1891. No. 13. p. 96.

3) Ebenda. No. 14. p. 103.

4) Liebscher passierte jedenfalls ein unliebsames Versehen, wenn derselbe in der Meinung, „Irrtümer" zu berichtigen, sich selbst teilweise in solchen bewegt. Nach seiner Meinung „schleppen sich durch die betreffende Litteratur noch immer die alten Angaben von Ahlborn (sic) über die botanische Natur des Koji". Diese „alten Angaben" von Ahlburg sind auch heute noch ganz gut und jedenfalls nicht so aus dem Handgelenk abzuthun, nur hätte Ahlburg einen andern Namen wählen sollen. Das ist aber wirklich kein so großes Versehen und könnte entsprechendenfalls (bei Auffindung von Perithecien) sogar ganz richtig sein, denn es handelt sich hier um ziemlich difficile, wohl nicht ohne weiteres allgemeiner richtig zu würdigende, rein morphologische bez. entwicklungsgeschichtliche Einzelheiten.

nicht die kurzen, mehr beiläufigen Ausführungen von Cohn und Büsgen — welch letzterer insbesondere, soweit er Zahlen bringt, solche im wesentlichen von Atkinson entnimmt — und die auch keinerlei Anspruch auf eine Lösung besonderer Fragen machten, zu wählen. Mit Recht weist übrigens Liebscher darauf hin, daß ein näheres Studium der in Betracht kommenden Hefe noch ausstehe und daraus dann erst weiteres über ihre event. Verwendbarkeit zur Erzielung hoher Alkoholausbeuten (15—18 %) geschlossen werden könne.

Während die Bauverhältnisse des Pilzes selbst inzwischen von Schröter[1]) noch einmal — wenn auch mit unbefriedigendem Ausgange — studiert wurden, stehen wir also hinsichtlich der Hefe auf dem alten Punkte. Korschelt hielt ihren genetischen Zusammenhang mit jenem für wahrscheinlich, Cohn und Büsgen bestritten es, Takamine gab es als Thatsache an. Was soll man nun annehmen?

Offenbar haben neuere Versuche zu entscheiden, und zwar kann es nicht anders sein, daß wir die Thatsache so lange in Frage stellen, als ihr Zutreffen exakt nachgewiesen wird, denn einstweilen darf die Annahme einer Luftinfektion — es handelt sich um eine eminent gärungsfähige Flüssigkeit — immerhin die wahrscheinlichere bleiben, und die gegenteilige Ansicht hat den Beweis anzutreten. Soweit mir selbst ein Urteil zusteht, entscheide ich mich einstweilen gleichfalls für jene, und zwar auf Grund sowohl des Ausfalls bezüglicher Versuche wie einer entsprechenden Ueberlegung. Zunächst ist mir nie bei den mit reinen Konidien angestellten Keimversuchen ein Sprossen derselben, resp. ein Zerfall des Mycels in einer Reihe von auf Zuckerlösung (10—20 %), Bierwürze, Rosinendekokt angestellten Kulturen zu Gesicht gekommen (ebensowenig wie Gärungserscheinungen) und weiterhin scheint mir denn doch auch die Konstruktion eines Zusammenhangs zwischen den nach Angabe ziemlich großen (11 μ im Dm.) Hefezellen und den zarten submersen Pilzhyphen etwas schwierig. Beides ist natürlich kein zwingender Beweis; jedenfalls beweist es nicht die Unmöglichkeit einer gelegentlichen Sproßzellbildung, thut aber dar, daß solche keineswegs Regel oder etwa eine häufige Erscheinung ist, vielmehr im günstigsten Falle an ganz bestimmte Bedingungen gebunden wäre[2]).

Wir lassen das dahingestellt und wenden uns zu einem interessanteren Punkte, nämlich den Versuchen, die in Nordamerika zwecks technischer Ausnutzung des Pilzes neuerdings im Großen durchgeführt sind; wenn sie nach unseren bisherigen Darlegungen Neues im Prinzip auch nicht bieten, so sind doch mehrere Momente derselben und unter anderem auch ihre praktische Durchführung geeignet, ein weiteres Interesse zu erregen. Verwendungsgebiet des

---

1) In Cohn, Kryptogamenflora Schlesiens. 1893. Bd. III. 2. p. 215.

2) Eine kürzlich erschienene „vorläufige Mitteilung" von J. Juhler bringt gleichfalls bezüglich dieses Punktes nichts Beweisendes, somit in Hinblick auf die bereits vorliegenden Angaben auch nichts wesentlich Neues; in dieser Frage ist allein der einwurfsfreie Nachweis entscheidend. Der Verf. thut auffallenderweise der über diesen Punkt in der früheren Litteratur bereits vorhandenen Angaben mit keinem Worte Erwähnung.

Pilzes ist hier also das Brennereigewerbe und in Peoria Illin. existiert unter Leitung des Patentinhabers (Takamine) ein großer Betrieb dieser Art. Es handelt sich da im wesentlichen um zwei Hauptpunkte: Gewinnung der Pilzdiastase sowie Vergärung der mit Hilfe dieser verzuckerten Maischen und dementsprechend stellen sich auch die Einzelheiten. Abweichend von dem Verfahren bei der Sakéfabrikation findet das Koji nicht unmittelbar als solches, sondern als Auszug (Diastaselösung) Verwendung, indem man diesen auf entsprechend vorbereitetes stärkemehlhaltiges Material (Mais) einwirken läßt. Natürlich ist auch nicht erforderlich, den Pilz gerade auf Reis zu züchten, da andere geeignete Nährmaterialien wie Getreide, Mais etc. im ganzen dieselben Dienste leisten und für die Verzuckerung ja nur die in den Fäden desselben entstehende Diastase in Frage kommt. Als Forderung an das Substrat gilt nur die Ermöglichung einer ergiebigen Vegetation, da ein möglichst großes Quantum von Pilzhyphen naturgemäß mehr leistet als ein geringeres, andererseits aber vom technischen Standpunkte aus auch die Zeit ihrer Erzeugung eine möglichst kurze sein muß.

Wie stellen sich nun die Erfolge des Verfahrens? Die ersten zu uns gelangten Nachrichten erweckten besondere Hoffnungen nicht, es hieß (nach persönlichen Mitteilungen), man habe mit unliebsamen Widerwärtigkeiten insbesondere bei der Kojigewinnung zu kämpfen, indem Bakterienauftreten (Säurebildung) das Züchten des Pilzes erschwere. Weiterhin schienen sich dann die Verhältnisse zu bessern, voraussichtlich wurden die anfänglichen Schwierigkeiten überwunden und es funktionierte alles richtig. Eine ganz andere Bedeutung als von drüben herüber gelangende Berichte irgend welcher Art haben aber fachmännische Augenzeugen, die von hier aus zur Besichtigung der Einrichtungen an Ort und Stelle waren, und deren liegen zur Zeit zwei vor.

Delbrück[1]), welcher auch vergleichende Verzuckerungsversuche zwischen Malz und Koji anstellte, sah die Fabrik nicht im Betriebe, spricht sich im allgemeinen aber anerkennend über das Verfahren aus, so daß er, wie vordem Schrohe, eine Prüfung in größerem Maßstabe bei uns befürwortet; über die Frage nach der Möglichkeit einer Verwendung von Pilzmalz an Stelle von Gerstenmalz entscheidet nach demselben der Kostenpunkt.

Ein zweiter Bericht liegt dann von O. Saare[2]) vor, aus dem gleichzeitig manche interessante Punkte über das „Takamineverfahren", wie es in der neueren Ausgestaltung zur Anwendung kommen sollte, zu entnehmen sind. Nach demselben wird die entsprechend vorbereitete Weizenkleie mit den Pilzsporen gemischt und 2 Tage bei 40° C gehalten; wie bei der Sakébereitung das Reiskorn, so überziehen sich hier die Weizenkornfragmente mit dem dichten weißen Schimmelrasen des Pilzes (Kojierzeugung). In Diffusionsapparaten wird das Ferment (die Invertase O. Kellner's, oder kurzweg die

1) Zeitschrift f. Spiritusindustrie. 1894. Ergänzungsband. p. 24.

2) Zeitschrift f. Spiritusindustrie. 1895. No. 14. („Mitteilungen über Spiritus- und Preßhefefabrikation in den Vereinigten Staaten von Amerika. Das Takamine-Verfahren.")

Pilzdiastase) nunmehr extrahiert und mit gedämpftem Mais, der in Hollefreund- ähnlichen Apparaten vorbereitet wurde, gemaischt. Die Verzuckerung soll in 15 Minuten beendet sein. Die Gärung wird nunmehr mit aus Japan stammender Hefe („Takamoto") angesetzt und nach 3—4 Tagen (bei 21—32° C.) werden bei Vergärung bis 0° Balling 6 Gewichtsprozente Alkohol erreicht. Die Ausbeute soll 37,2 bis 40% Alkohol auf 100 kg Mais betragen, während die gewöhnlichen Brennereien circa 35% Alkohol gewinnen.

Neu und gegenüber dem früheren Takamine'schen Standpunkte fast auffallend ist hier die Angabe desselben, daß die benutzte Hefe aus Japan stammt; sie wurde also wohl ursprünglich daher bezogen. Das wäre nun kaum erforderlich und es bedürfte überhaupt nicht ihres besonderen Zusatzes, wenn sie, um hierauf nochmals zurückzukommen, von dem Aspergillus selbst erzeugt würde. Es scheint das also ein weiterer Wahrscheinlichkeitsbeweis gegen diese Möglichkeit zu sein. Die Säuerung der Hefenmaische beträgt 2,5% und bezüglich der Hefe selbst bemerkt Saare noch, daß es keine Reinkultur zu sein scheint.

Ueber die diastatische Wirkung wird noch angegeben, daß 1 Pfund Koji mit 1 Pfund Weizenkleie gemischt, die Wirkung von zwei Pfund Malz (Darrmalz) besitzt, doch wird hervorgehoben, daß die Diastase sich ungleich leichter rein darstellen lasse und so an Leitungsfähigkeit um ein Vielfaches die des Malzes überträfe. Endlich soll nach einem von Saare eingesehenen Cirkulare der Takamine Ferment Comp. durch die bisherigen Arbeiten eine Ersparnis von 6,72 M. auf 100 Liter absol. Alkohol erzielt sein.

Der augenblickliche Standpunkt des Unternehmens ist freilich wieder ein anderer und frägt es sich wohl, inwieweit eine Fortsetzung desselben statthat, denn nach den Mitteilungen Saare's soll es infolge anderweitiger ungünstiger Verhältnisse geschäftlicher Art ein plötzliches Ende gefunden haben. Im Interesse der Sache wäre das zu bedauern, wenn schon es andererseits wohl kaum zweifelhaft sein kann, daß unter Voraussetzung des genauern Zutreffens der von seiner Leitung mitgeteilten Rechnungen eine baldige Weiterentwickelung sich vollziehen wird. —

Wir wenden uns bei dieser Gelegenheit noch zu einem andern Punkte. Die allgemeineres Interesse beanspruchenden Mitteilungen Saare's geben uns einmal wieder Veranlassung, darauf hinzuweisen, wie wenig die ursprünglichen älteren Arbeiten über Sakéfabrikation und Kojidarstellung in weitere Kreise selbst von Fachleuten gedrungen sind, und wie angezeigt somit eine hier gegebene geschichtliche Darstellung der Entwickelung unserer Kenntnisse von dem Pilzverfahren ist. Ohne dem Verf. daraus einen Vorwurf machen zu wollen, sei das hier doch kurz erörtert. Seinen einleitenden Rückblick über das bisher bezüglich dieses Gegenstandes in Deutschland bekannt Gewordene beginnt derselbe mit der Arbeit Kellner's (Mori und Nagaoka's) über das Ferment des Aspergillus und citiert dann die Angaben Ikuta's über die japanische Sakébrauerei.

Wie bereits aus unsererer obigen Darstellung hervorgeht, war das von Ikuta Mitgeteilte nichts Neues und bereits lange in der

Litteratur bekannt (womit ja das Verdienst einer neueren Auffrischung und Zugänglichmachung für weitere Kreise nicht geschmälert würde, wenn der Autor wenigstens seine Quelle namhaft gemacht hätte) und nach Hoffmann von Korschelt ausführlich geschildert; es wären also diese neben Atkinson in erste Linie zu stellen, wenn es sich um einen streng historischen Rückblick handelt. Allerdings bleibt zu bedenken, daß dem Verf. um einen solchen weniger zu thun war, als um eine kurze Orientierung, aber trotzdem hätte vielleicht — um Mißverständnisse seitens des Lesers auszuschließen — auf die Verdienste der älteren Forscher, welche uns zuerst mit dem Verfahren bekannt gemacht, hingewiesen werden können. Zweck der Kellner'schen Arbeit war das nähere Studium der schon von Korschelt als „Eurotin" bezeichneten Diastase, es greift also diese Untersuchung an einem bestimmten Punkte derjenigen des letztgenannten Autors an. Speziell verdanken wir ihr, um das noch hervorzuheben, u. a. die Bekanntschaft mit der Thatsache, daß das Kojiferment die Stärke des Reiskorns in Maltose (neben Dextrose) umwandelt und erstere dann weiterhin in Dextrose überführt. Korschelt hatte demgegenüber allerdings das Verzuckerungsvermögen von Kojiauszügen, aber nicht die chemische Natur des Zuckers festgestellt, obschon er im übrigen die Bedingungen der Wirksamkeit des Ferments mit der des Malzes verglichen hatte. Aehnliche Angaben über die Art der gebildeten Zucker waren auch von Atkinson gemacht worden.

Als weitere Beiträge zu der uns hier beschäftigenden Sache geliefert zu haben, führt Saare dann nach kurzer Erörterung des Takamine'schen Patents auf Grund des Schrohe'schen Referats die Mitteilung Liebscher's an, derzufolge mit Rücksicht auf Analysen (von Kirch und Atkinson) sowie die Befunde von Cohn und Büsgen [1]) der eigentliche Sachverhalt ein von dem durch Takamine geschilderten abweichender sein soll. Diese Punkte sind aber bereits oben berührt und auf ihr richtiges Maß zurückgeführt, denn ebensowenig wie Takamine die wissenschaftliche Litteratur durch neue Mitteilungen bereichert, bringen die Bemerkungen dazu, bez. die Gewährsmänner auf welche sie sich stützen — von dem einen Punkte bezüglich des richtigen Namens und Aussehens des Pilzes abgesehen — Dinge, die bis dahin etwa unbekannt waren, und es hätte streng genommen allein der Hinweis auf die Mitteilungen bez. Untersuchungen von Hoffmann, Korschelt, Atkinson und Kellner genügt, um ein vollständig zutreffendes Bild von allem hier in Betracht Kommenden zu liefern, denn das, was nach diesen in der Litteratur hinzugekommen, ist — mit Ausnahme der neueren beiden wertvollen Originalberichte über Einzelheiten der technischen Durchführung des amerikanischen Verfahrens — in der Hauptsache nur eine Wiederholung älterer Mitteilungen, denen wenigstens der Vorrang unzweifelhaft da gebührte, wo auch ihr Nachfolger genannt werden.

1) Liebscher bringt auch de Bary mit der Büsgen'schen Mitteilung in Zusammenhang, aber wohl ohne Grund. Wenigstens finde ich in der Büsgen'schen Arbeit nirgends des Namens von de Bary erwähnt.

Diese letzterwähnten Punkte erscheinen nun ja recht unwesentlich, zumal sie mit der Sache selbst nichts Näheres zu schaffen haben. Ich erwähne sie auch nicht bloß um zu nörgeln. Trotzdem und auf die Gefahr des Vorwurfs hin, billige Kritik zu üben, hielt ich sie doch für beachtenswert genug, um etwas näher auf sie einzugehen. Bereits oben ist darauf hingewiesen, daß wir uns einer Unbilligkeit schuldig machen, wenn wir die älteren gründlichen Arbeiten über die Sakébrauerei ignorieren, um dafür die Priorität neueren Darstellungen, die teils aus ihnen schöpfen, teils das Thema nur nebenbei behandeln, zu überlassen [1]). Es gelten meine Einwände somit auch nur der Sache an sich, denn endgiltig ist, ganz abgesehen davon, daß es dem persönlichen Ermessen eines Jeden überlassen bleibt, die für seine Zwecke geeignete Litteratur auszuwählen, diese auch nicht jederzeit in ihrer Vollständigkeit zugänglich. Andererseits dürfte es aber doch wohl allgemeiner willkommen geheißen werden, wenn einmal eine die gesamte Litteratur etwas genauer berücksichtigende nähere Darlegung des eigentlichen Sachverhalts stattfindet, wie solche speziell bezüglich der Angaben über Sakébrauerei und Pilzverzuckerung jedenfalls angebracht war. Im übrigen thun, wie schon gesagt, diese Bemerkungen dem Verdienste Saare's, uns einmal einen etwas näheren Einblick in die Art und Weise des amerikanischen Arbeitens mit dem Pilze gewährt zu haben, keinerlei Abbruch. —

Indem wir die Erörterung dieser verlassen, wenden wir uns noch kurz einer gleichfalls in der letzten Zeit erschienenen Mitteilung zu, welche sich wiederum mit der technischen Bedeutung des Pilzes für Japan beschäftigt und auch von einer Seite stammt, welcher die bezüglichen Verhältnisse aus eigner Anschauung bekannt wurden. In seinen „Mitteilungen aus Japan" entwirft O. Kellner [2]) zunächst eine kurze Schilderung der jetzigen Sakébrauerei und schließt daran eine solche der Darstellung der Sojasauce und des Miso, zweien gleichfalls unter Zuhilfenahme des Aspergillus Oryzae betriebenen Gewerben.

Bezüglich der ersteren sei kurz hervorgehoben, daß ihr zufolge das Verfahren zur Zeit im wesentlichen noch gleicher Art ist, wie das bereits von Korschelt geschildert wurde. Im übrigen sind dem Verf. sowohl die Mitteilungen dieses wie die von Hoffmann, Atkinson und Rein [3]) bekannt, ein in Hinblick auf das oben Ausgeführte immerhin erwähnenswerter Umstand. Wir greifen aus den in kurzen Zügen ein übersichtliches Bild des ganzen Prozesses liefernden Mitteilungen nur einige zur Erörterung heraus.

Bezüglich der Organismen, welche die eigentliche Gärung hervorrufen, steht der Verf. gleichfalls auf dem Standpunkte, daß solche voraussichtlich aus der keimreichen Atmosphäre der Gärkammern in die Maische gelangen, da die gesamten Manipulationen bei Bereitung der Hefenmaische (Moto) hierauf hindeuten. Es werden

---

1) Kleinere Ungenauigkeiten verschiedener Art finden sich auch in einigen bezüglichen Lehrbüchern, auf die hier aber nicht näher eingegangen werden soll.

2) Chemiker-Zeitung 1895. No. 6 u. 7.

3) Japan 1886. Bd. II. p. 111.

durch das wiederholte, mehrere Tage fortgesetzte Rühren wahrscheinlich Hefezellen aus der Luft wenn auch unbewußt, eingefangen, und die Annahme eines irgendwelchen Zusammenhangs mit dem Aspergillus liegt jedenfalls ferner. In der so gewonnenen Hefenmaische, deren Darstellung als der schwierigste Teil des Verfahrens gilt, hat man neben viel unverzuckerter Stärke wechselnde Mengen (3—14 %) Alkohol.

Das fertige Getränk (Saké, Reiswein) ist wenig haltbar und neigt besonders während der heißen Jahreszeit zur Säuerung, die man durch Pasteurisieren, neuerdings auch durch Salicylsäurezusatz, verhindert. Es wird, wie wir hier zum ersten mal erfahren, heiß getrunken und hat bei seinem Alkoholgehalte von 11—14 Proz. eine ziemlich intensive Wirkung [1]). Die gesamten zu seiner Herstellung erforderlichen Phasen umfassen einen Zeitraum von rund 7 Wochen, woraus sich beiläufig eine Verkürzung von einigen Wochen gegen früher (Korschelt) ergiebt. —

Bemerkenswert erscheint der Umfang dieses Gewerbes, demzufolge es wohl mit unserer Bierbrauerei zu vergleichen ist. Im Jahre 1888/89 betrug die Zahl der Betriebe 15 708, die Jahresproduktion nahezu 7,2 Millionen Hektoliter, so daß der durchschnittliche Verbrauch auf den Kopf der Bevölkerung sich auf 21,5 Liter stellte. Die von der Regierung erhobene Fabrikatssteuer belief sich im genannten Jahre (nach Rathgen)[2]) auf ungefähr 70 Millionen Mark.

Uebrigens verwendet man nach Kellner in Japan zur Spiritusfabrikation ein Koji, das nicht aus Reis, sondern aus Gerste, im übrigen aber auf ganz gleiche Weise wie das Reiskoji bereitet wird. Das oben geschilderte Takamine'sche Verfahren berührt sich damit wieder vollständig, bringt somit auch bezüglich der Verwendung eines vom Reis verschiedenen Rohmaterials nichts wesentlich Neues.

Es ist endlich nicht ohne Interesse, zu sehen — und es sei auch das hier kurz berührt — wie das diastatische Vermögen desselben Pilzes nicht bloß in der eigentlichen Gärungsindustrie, sondern auch in einigen kleineren, mehr oder weniger verwandten Gewerbebetrieben Ostasiens Verwendung findet, über die Kellner gleichfalls einige nähere Mitteilungen macht. Da ist zunächst die Darstellung der in Japan vielgenossenen Skoyu- (Soja-) oder Bohnen-Sauce, welche seinerzeit auch bereits von F. Cohn [3]) erwähnt wurde. Ausgangsmaterialien für dieselbe sind Weizen, Sojabohne und Koji, welch letzterer den entsprechend vorbereiteten (Zerkleinern, Dämpfen) beiden ersteren zugefügt wird und nunmehr die bekannte Wirkung entfaltet. In der zuckerreichen, mit einem starken Kochsalzzusatze versehenen Masse tritt dann weiterhin eine sehr langsam verlaufende, 8 Monate bis 5 Jahre dauernde Gärung ein, über deren eigentliche Ursache bisher wohl noch wenig zu sagen ist. Die von den unvergorenen Substanzen abgezogene braune aromatische Sauce

---

1) Ein Vergleich mit unserem Biere und Weine liegt somit weniger nahe, als der mit unserem Grog, Glühwein u. dergl.
2) Japans Volkswirtschaft und Staatshaushalt 1891.
3) l. c.

(Träger des Aromas soll noch Tawara und Kitao[1]) eine krystallisierende stickstoffhaltige Substanz sein) wird von Kellner mit dem Fleischextrakte verglichen und weist einen außerordentlichen Verbrauch auf. Für das Jahr 1888/89 ergeben sich nach der citierten Statistik Rathgen's im Durchschnitte für jeden Kopf der Bevölkerung 5,5 Liter und die Produktion betrug in den 10634 Betrieben nahezu $2^1/_2$ Millionen Hektoliter, was den Staate an Steuer ungefähr $5^1/_2$ Millionen Mark abwarf. Auch hiernach spielt also unser Pilz für die japanische Industrie keine unbedeutende Rolle, und die Gärungsgewerbe nehmen in diesem Lande, wie schon Kellner bemerkte, eine wichtige Stellung ein.

Ein drittes Produkt endlich bei dessen Darstellung jener beteiligt ist, ist das der Soja-Sauce ähnlich bereitete Miso, ein nahrhafter, braunrot gefärbter salziger, steifer Brei, dessen man sich zur Herstellung von Suppen und Speisen verschiedener Art bedient und der für die Ernährung namentlich der unteren Klassen eine Bedeutung hat. Man stellt ihn fabrikmäßig wie auch im Haushalte selbst dar, und geht auch hier wieder von den zerkleinerten gedämpften Sojabohnen aus, die man mit Reis- oder Gerstenkoji mischt. Gebrauchsfertig ist das Produkt je nach der besonderen Art der Behandlung nach 4 Tagen bis 6 Monaten, während welcher Zeit die Masse in bedeckten Fässern an einem kühlen Orte aufbewahrt wurde. Die währenddes in ihr sich abspielenden Vorgänge lassen sich aus den von Kellner gegebenen Analysen[2]) wenigstens zu einem Teile erschließen: Neben Spuren von Alkohol (1—2 Proz.) bildet sich Zucker in ziemlich reichlicher Menge (8—11 Proz.), offenbar wieder durch die Thätigkeit unseres Pilzes. Vermutlich dürften aber späterhin noch andere Organismen hinzukommen, über welche jedoch nichts bekannt iat. Daß übrigens die Vegetation der Masse eine in ihrer Art eigentümliche und nicht ohne weiteres mit der in beliebigen zuckerhaltigen Flüssigkeiten zu vergleichen ist, darf man wohl bereits aus dem hohen Kochsalzgehalte (6—13 Proz.) derselben schließen. Auf Grund dieses ist der Genuß größerer Mengen (mit einem Male) auch nicht thunlich, doch ist der Konsum ein regelmäßiger und täglicher, so daß Kellner ihn jährlich auf 30 Millionen Kilogramm schätzt und nach demselben der größere Teil der jährlichen Sojabohnenernte für diese Zwecke Verwendung findet. —

Die auf die technische Verwendung und chemischen Eigenschaften des interessanten Pilzes sich beziehende Litteratur haben wir damit erschöpft. Kurz wurde auch der Angaben Erwähnung gethan, die sich auf seine morphologischen Merkmale beziehen und wie sie von Ahlburg, Cohn, Büsgen und Schröter geliefert wurden. Auf diesen Punkt, über den ich mich a. a. O.[3]) in ausführlicherer Weise verbreitete, soll hier jedoch nicht näher eingegangen werden, unsere Schlußbemerkungen mögen anderer Art sein.

---

1) Citiert nach Kellner.

2) Imperial College of Agriculture and Dendrology. Bulletin No. 6. Tokio 1889, sowie Chemiker-Zeitg. 1895. l. c.

3) „Aspergillus Oryzae, der Pilz der japanischen Sakébrauerei." (Centralbl. f. Bakteriologie. II. Abteilg. 1895. Heft 4/5 und 6, mit Tafel.)

In Hinblick auf die hohe Bedeutung, welche Vertretern oder Produkten des Pflanzen- und Tierreiches für die menschliche Existenz ganz allgemein zukommt, kann diejenige des hier in Frage stehenden Organismus eine Verwunderung kaum erregen. Interesse gewinnt sie aber dadurch, als derselbe einer der wenigen Vertreter seiner Verwandtschaft ist, die man sich bisher für gewerbliche Zwecke dienstbar gemacht hat. Die Reihe der überhaupt nutzbar in das menschliche Leben eingreifenden Pilze ist an sich und im Verhältnis zur wirklichen Zahl derselben gering, planmäßig werden aber von diesen wieder nur verhältnismäßig wenige verwandt und gezüchtet. Sehen wir von einigen Gewerben, in denen eine Nutzbarmachung gewisser Pilz- und Bakterienformen noch mehr im Entstehen begriffen ist, ab, so bleiben etwa neben den Organismen der Säuregärungsindustrie in der Hauptsache nur diejenigen des Alkoholgärungsgewerbes als in dieser Beziehung von allgemeinerer Bedeutung übrig. Mit ihnen ist auch der Reisschimmelpilz wohl am besten in Vergleich zu stellen.

In wenigstens ähnlich umfangreichem Maße, wie in europäischen Staaten die Hefearten in den Dienst der Industrie gestellt werden, gilt das bezüglich seiner für Ostasien und speziell Japan; eine Malzbereitung in der bei uns üblichen Weise kennt man dort nicht, die wirksamen Substanzen dieses wichtigen Hilfsmaterials liefert nicht die eigne Lebensthätigkeit der Zellen des Getreidekorns, sondern diejenigen des sich von ihren toten Inhaltsstoffen ernährenden Pilzes. Im übrigen ist es interessant, daß derselbe dort gleichfalls als Kulturpflanze jedoch wohl höheren Alters als unsere Hefen, zu gelten hat, obschon man ihn keineswegs in Reinkulturen, wie bei uns zur Zeit die Hefe, weiterzüchtet. Alle Operationen vollziehen sich seit Jahrhunderten an mehr oder weniger freier Luft (also ohne besondere Vorsichtsmaßregeln), ohne daß dieselben dadurch störend beeinträchtigt werden. Offenbar mit infolge der andauernden Kultur ist der Pilz in Japan so verbreitet, daß er sich wohl jederzeit reichlich auf den ihm zusagenden Substraten (gekochter Reis) einfangen läßt, also auch „wild“ an geeigneten Orten vorkommt. [1]) Wenn seine Entwickelung bei der Kojibereitung durch Fremdorganismen so wenig gestört wird, so liegt das offenbar zum guten Teile an seiner auf geeignetem Nährboden zur Entfaltung kommenden außerordentlichen Wachstumsintensität, derzufolge er in Stunden oder Tagen das ganze Substrat durchwächst. Man kann das mit andern Worten und etwas populär etwa dahin ausdrücken, daß in seiner Heimat aus irgend einem Grunde gekochter Reis in hohem Grade zum „Schimmeln“ durch diesen besonderen Pilz neigt [2]), vielleicht gerade, weil diesem die ausgesprochene Eigentümlichkeit einer schnellen Verzuckerung desselben — in minderem Maße sind auch manche andere Pilzformen

---

1) Das gilt nach den Mitteilungen von Eijkmann sowie Went und Prinsen-Geerligs ebenfalls für die Verzuckerungspilze der Arrakfabrikation (speziell der „chinesischen Hefe“ und des japanischen „Ragi“), deren Keime man überall an Reisstroh, Reis körnern etc. haften findet. Vergl. weiter unten.

2) Bei uns treten da meist andere Formen (Penicillien, Mucorineen u. a.) auf, sodaſs auch an der Luft liegendes Koji rasch von solchen überwuchert wird.

dazu befähigt — und somit einer raschen Nutzbarmachung seiner Substanz zukommt. Es ist das immerhin wenigstens eine ähnliche Erscheinung, wie bei uns das bevorzugte Auftreten von Penicillium glaucum und Mucor stolonifer auf gekochten stärkemehlhaltigen Eßwaren, von Mucor Mucedo auf Pferdedünger, Bacillus subtilis in Heudekokten, oder am auffälligsten von Hefezellen und Gärung in gewissen zuckerhaltigen Flüssigkeiten, oder etwa von Milchsäurebakterien in Maische, Milch etc.

Daß die technische Bedeutung des Pilzes aber wohl mit der der Hefe vergleichbar ist, mögen endgiltig einige Zahlen darthun. Ich beschränke mich, da Angaben über die Alkoholproduktion für Japan mir nicht vorliegen, auf den Vergleich der Sakébrauerei mit der Bierbrauerei. Die Bierproduktion Deutschlands [1]) betrug (im Jahre 1891/92) 53,2 Millionen Hektoliter, der durchschnittliche Verbrauch pro Kopf 106 Liter; diejenige der Vereinigten Staaten Nordamerikas 35,2 Millionen Hektoliter bei 56 Liter Verbrauch per Kopf (1890), und endlich für Oesterreich-Ungarn (1889) 13,7 Millionen Hektoliter bei einem Konsum von 34 Liter pro Kopf, während die Produktionszahlen Frankreichs, Rußlands, Italiens — teilweise erheblich — unter 10 Millionen Hektoliter lagen (1889). Demgegenüber war die Saképroduktion Japans nach der Statistik Rathgen's im Jahre 188889 7,2 Millionen Hektoliter (neben 2,5 Millionen Hektoliter Sojasauce), womit sich auf den Kopf 21,5 Liter Konsum ergeben (neben 5,5 Liter Sojasauce). Für das gleiche Jahr (1888/89) stellt sich die Produktion Deutschlands, welche in 10 Jahren um rund 14 Millionen gestiegen ist, dann noch um ein entsprechendes niedriger. Allerdings kann das in Japan sehr populäre alkoholreiche Getränk nicht in jeder Beziehung mit dem bei uns in gleichem Ansehen stehenden, wesentlich schwächeren aus Gerstenmalz verglichen werden. An Wein erzeugte Deutschland in demselben Jahre (1890) rund $4^1/_2$ Millionen Hektoliter, somit unter Berücksichtigung der Bevölkerungszahl kaum die Hälfte des in Japan produzierten Saké.

Wir schließen unsere Ausführungen zweckmäßig mit dem Hinweise daß der hier genannte Pilz nicht etwa die einzige Art ist, deren diastatisches Vermögen von technischer Bedeutung ist, denn gerade in Ostasien (Hinterindien, Java) bedient man sich für die Zwecke der Reisverzuckerung noch einiger anderer, erst neuerdings näher studierter Formen. Es sind das Mucorineen, welche (neben anderweitigen Organismen) einen wesentlichen Teil der als chinesische Hefe, (Saigon-Hefe) und Ragi benannten Hilfsstoffe, insbesondere für die Arrakfabrikation bilden. Während also in der „japanischen Hefe“, d. h. dem reinen „Koji“ der Japaner, ausschließlich ein einziger Organismus der in Betracht kommende Bestandteil ist und anderweitige Beimengungen zufällige oder absichtliche Verunreinigungen darstellen [2]), haben wir in den soeben genannten Materialien

1) Diese Angaben entnehme ich Ost, Technische Chemie. 2. Auflage. Berlin 1893. p. 435.

2) Wenn also neuerdings angegeben wurde (J. Juhler in diesem Centralblatte. 1895. No. 9/10), daß im „Tane Koji“ neben Aspergillussporen noch die eines „weißen Schimmels“ und einer „Mucorart“ vorhanden, so ist diese allgemein ausge-

ein Gemenge von verzuckernden, (Säure-) und Alkohol-bildenden Organismen vor uns, wie das insbesondere für die Vegetation des javanischen „Ragi“ von Went und Prinsen-Geerligs [1]) genauer gezeigt wurde. Benannt sind von den hier in Betracht kommenden Diastasebildnern bisher 4 Species, von denen die erste, von Calmette [2]) in der chinesischen Hefe gefundene, als Amylomyces Rouxii bezeichnete späterhin von Eijkmann [3]) wohl richtiger als Mucor Amylomyces Rouxii angesprochen wurde. Went und Prinsen-Geerligs (welche für die soeben genannte Art den Namen Chlamydomucor Rouxii vorschlagen) beschreiben dann weiter zwei ähnliche Formen als Rhizopus Oryzae und Chlamydomucor Oryzae, lassen im übrigen die Frage einer etwaigen Zusammengehörigkeit einstweilen offen, so daß es sich noch frägt, ob nicht diese drei gleichfalls technisch wichtigen Zuckerbildner gleicher Art sind, die somit bezüglich ihrer Bedeutung mit dem Aspergillus Oryzae rivalisieren würde.

Original-Referate aus bakteriologischen und parasitologischen Instituten, Laboratorien etc.

Pflanzenphysiologisches Institut in Geisenheim.

Lafar, Franz, Studien über den Einfluß organischer Säuren auf Eintritt und Verlauf der Alkoholgärung. I. Die Weinhefen und die Essigsäure. (Landwirtschaftl. Jahrbücher. 1895. p. 445—474.)

Mit Reinkulturen angestellte Versuche über den Einfluß, welchen die Gegenwart organischer Säuren auf den Verlauf der Alkoholgärung auszuüben vermag, sind bisher nicht ausgeführt worden. Die im Titel genannte Arbeit berichtet nun über solche. Die wichtigsten der erzielten Befunde sollen im Nachfolgenden kurz angeführt werden. Zweck des

Ersten Versuches

war es, nachzuforschen, ob die durch verschiedene Säuren bewirkte Beeinflussung bei den einzelnen Rassen gleich groß ist oder nicht.

---

sprochene Thatsache unzutreffend. Insoweit die Ausführungen des Verf.'s überhaupt Neues bringen, mangelt — wie bereits oben bemerkt — der Nachweis dafür. Wenn derselbe statt dessen hervorhebt, daß die Versuche mit Hilfe des Mikroskops und von Reinkulturen etc. angestellt wurden, so sieht man darin wohl kaum etwas Auffallendes.

1) „Beobachtungen über d. Hefearten und zuckerbildenden Pilze der Arrakfabrikation.“ (Verhandlg. d. kgl. Akademie d. Wissensch. Amsterdam 1895.)

2) „La levure chinoise.“ (Annales de l'Institut Pasteur. T. VI. 1892. p. 604.)

3) „Mikrobiologisches über d. Arrakfabrikation in Batavia.“ (Centralbl. für Bakteriologie. Bd. XVI. 1894. p. 101 u. f.)

Die natürliche Acidität eines Geisenheimer Weinmostes wurde in einer Anzahl von Teilproben durch verschiedene organische Säuren (Apfel-, Bernstein-, Citronen-, Essig-, Milch-, Oxal-, Weinsäure) ersetzt. Diese einzelnen Proben von gleich hohem Säuregrade wurden dann in zwei Parallelreihen mit gleich viel Hefezellen von je einer der beiden Weinheferassen Scharzhofberg und Geisenheim angestellt und hierauf der Verlauf der Gärung durch halbtägig wiederholte Wägungen der entbundenen Kohlensäure verfolgt. Endlich wurden die derart erhaltenen Weine der Analyse unterzogen, aus deren Ergebnissen die nachfolgenden Schlüsse gezogen worden sind.

Die höchste Gärkraft wurde von jeder der beiden Hefen in der weinsauren Probe entfaltet. In den essigsauren hingegen verlief die Zersetzung viel weniger lebhaft. Dies gilt ganz besonders hinsichtlich der Hefe Scharzhofberg; diese hatte binnen drei Tagen 5,0 g, die Hefe Geisenheim hingegen 9,2 g CO_2 entwickelt. Es erwiesen sich somit diese beiden Hefen gegenüber dem Einflusse der Essigsäure als verschieden empfindlich. Die essigsauren Proben waren es auch, in welchen die schwächste Vermehrung der Aussaat und die geringste Ausbeute an Glycerin festgestellt wurde.

Diese Befunde waren Veranlassung, das nächste Studium ausschließlich dem Einflusse der Essigsäure zu widmen. Von den Einzelfragen, die nun da sich einstellen, betrifft die nächstliegende den Höchstgehalt an Essigsäure, bei dem eben noch Gärung eintritt. Die Größe des Einflusses verschieden starker Zusätze von Essigsäure festzustellen, war daher Aufgabe des

Zweiten Versuches.

Rücksichten auf die Praxis der Weingärung ließen es als ersprießlich erscheinen, diesen Versuch in zweierlei Anordnung durchzuführen: gemessene Mengen der genannten Säure wurden in einer ersten Reihe einem normalen Moste („normal“), in einer zweiten Reihe hingegen einem solchen zugesetzt, dem man zuvor seinen natürlichen Säuregehalt entzogen hatte („entsäuert“). Angestellt wurde mit Hefe Geisenheim. Das wichtigste Ergebnis dieses Versuches ist die Feststellung, daß noch Gärung eintrat bei Gegenwart von 0,74 Proz. Essigsäure im „normalen“ und von 1,00 Proz. im „entsäuerten“ Moste. Eine nennenswerte Beeinträchtigung der Geschwindigkeit des Verlaufes der Gärung, der Vermehrung der Aussaat und der Ausbeute an Alkohol und an Glycerin wurde in beiden Parallelreihen nur in jenen Proben gefunden, welche mehr als 0,27 Proz. Essigsäure enthielten.

Diese Befunde widersprechen vielen bisherigen Litteraturangaben, denen zufolge schon ein Gehalt der Flüssigkeit an Essigsäure von 0,1 Proz. die Gärung merklich schädige. Es entstand so der Wunsch, eine Anzahl von Hefenrassen auf ihre Empfindlichkeit gegen diese Säure zu untersuchen. Dazu diente der

Dritte Versuch,

dessen Aufgabe war, den Einfluß eines Zusatzes an Essigsäure von 0,8, von 0,9 und von 1,0 Proz. auf die Gärthätigkeit von 15 Hefenrassen in entsäuertem Moste zu prüfen. Es waren dies die nachbenannten Rassen von Weinhefen:

A. Deutsche Hefen:
- 1) Rheingau.
  - a) Weißweinhefen:
    - 1) Steinberg,
    - 2) Johannisberg,
    - 3) Geisenheim-Rotenberg,
    - 4) Rüdesheim-Hinterhaus.
  - b) Rotweinhefe:
    - 5) Aßmannshausen.
- 2) Moselgebiet.
  - a) Weißweinhefen:
    - 6) Pisport,
    - 7) Berncastel, Doktor.
  - b) Rotweinhefen:
    - 8) Arry,
    - 9) Scy.
- 3) Ahrthal.
  - Rotweinhefe:
    - 10) Walporzheim.
- 4) Saarthal.
  - Weißweinhefe:
    - 11) Scharzhofberg.
- 5) Rheinpfalz.
  - Weißweinhefen:
    - 12) Ungstein,
    - 13) Forst.
- 6) Elsaß.
  - Weißweinhefe:
    - 14) Rappoltsweiler.

B. Italienische Hefe:
- Weißweinhefe:
  - 15) Bari.

Als Nährboden kam konzentrierter sicilianischer Most zur Anwendung, der, nach entsprechender Verdünnung, durch Behandlung mit kohlensaurem Kalk entsäuert worden war. Nach erfolgter Sterilisierung der auf 45 Gärflaschen (à 400 ccm Beschickung) verteilten Flüssigkeit wurden die oben bezeichneten Zusätze von Essigsäure gemacht. Je drei Flaschen (0,8, 0,9, 1,0 Proz. E.) wurden mit ein und derselben Rasse beimpft; jede der 45 Proben erhielt 110 Millionen Zellen. Der durch tägliche Wägungen verfolgte Verlauf der Gärung ließ erkennen, daß der Widerstand gegenüber dem gärungshemmenden Einflusse der Essigsäure bei den verschiedenen Heferassen verschieden ist. Es vermochten noch Gärung durchzuführen bei Gegenwart von Proz. Essigsäure

0,8: alle fünfzehn Rassen,
0,9: nur Ungstein nicht, sonst alle übrigen,
1,0: nur drei, nämlich Bari, Scy, Rüdesheim.

Damit sind alle jene Angaben widerlegt, denen zufolge ein Zusatz von 1,0 Proz. Essigsäure das Aufkommen der Alkoholgärung zu verhindern vermöge.

Innerhalb dieser drei Gruppen selbst treten nun gleichfalls große Unterschiede zu Tage. So schon in derjenigen mit dem schwächsten Säurezusatze, in der z. B. Hefe Bari es zu einer Kohlensäure-Gesamtabgabe von 23,4 g, Hefe Aßmannshausen hingegen nur auf 14,3 g brachte.

Diese Verschiedenheiten werden noch auffälliger, wenn man zu der zweiten Gruppe übergeht. Bei Gegenwart von 0,9 Proz. Essigsäure lieferte Hefe Geisenheim, als die eifrigste, 24,5 g, Hefe Scharzhofberg, als die trägste, nur 9,4 g Kohlensäure.

Von den drei Rassen, welche auch durch 1,0 Proz. Säure sich nicht abhalten ließen, Zucker zu spalten, ergab Hefe Bari 17,6 g (gegen 23,4 g bei 0,8 Proz.), Hefe Scy und Hefe Rüdesheim 11,9 bez. 11,6 g CO_2.

Von den Folgerungen, zu denen die Ergebnisse der Analyse der Weine geführt haben, sollen zwei noch kurz besprochen werden.

Die erste betrifft die Vermehrung der Aussaat, wie dieselbe in der nachstehenden Tabelle I ihre ziffernmäßige Darstellung findet. Die Zahlen derselben besagen, zu wieviel Zellen der Ernte eine Zelle der Aussaat sich entwickelt hat.

Tab. I. Hefenvermehrung der Aussaat Eins.

Hefe:		Berncastel	Forst	Walporzheim	Johannisberg	Rüdesheim	Bari	Rappoltsweiler
Gehalt der Probe an Essigsäure, Proz.:	0,78	106	74	57	47	46	46	40
	0,88	49	37	37	25	34	26	16
	1,00	0	0	0	0	24	31	0

Hefe:		Arry	Scharzhofberg	Aßmannshausen	Geisenheim	Ungstein	Pisport	Scy
Gehalt der Probe an Essigsäure, Proz.:	0,78	35	34	31	30	27	23	—
	0,88	23	18	34	42	0	11	—
	1,00	0	0	0	0	0	0	29

Wie man daraus ersieht, haben von 13 Hefen 11 die reichlichere Ernte in den wenigst sauren Proben geliefert. Man kann somit sagen, daß in der Regel ein Gehalt von 0,9 Proz. Essigsäure der Vermehrung der Hefezellen weniger zuträglich ist als ein solcher von 0,8 Proz. Das Verhältnis der beiden Ausbeutezahlen ist für jede dieser 11 Rassen annähernd das gleiche und zwar Ernte der schwächst sauren Probe doppelt so groß als die der stärker sauren. Es herrscht somit in dieser Hinsicht eine nicht zu verkennende Uebereinstimmung. Desto größer sind dafür die Verschiedenheiten hinsichtlich der absoluten Erträge. Um auf die beiden Grenzwerte hinzuweisen, so hat sich Hefe Berncastel auf das 106fache, Hefe Pisport hingegen auf das 23fache vermehrt. Es erweist sich somit auch hinsichtlich der absoluten Zellvermehrung das Verhalten der einzelnen Hefenrassen gegenüber der Essigsäure als ungleich.

Nicht minder interessant ist die Antwort auf die Frage nach der Größe der chemischen Arbeit der Zellen. Wir finden ein mit ziemlicher Genauigkeit bestimmbares Maß dafür in dem Verhältnis zwischen der Menge des erzeugten Alkohols und der Zahl der Hefezellen der Ernte, wie es in der nachstehenden, aus den Analysenbefunden abgeleiteten Tabelle II ziffernmäßig dargestellt ist. Die Zahlen geben an, wieviel Milligramme Alkohol auf eine Million Zellen der Ernte entfallen.

Tab. II. Einer Million Hefezellen entsprechen mg Alkohol:

Hefe:		Berncastel	Forst	Walporzheim	Aßmannshausen	Rüdesheim	Bari	Scharzhofberg
Gehalt der Probe an Essigsäure, Proz.:	0,78	1,6	2,9	3,5	4,6	4,7	4,8	4,9
	0,88	2,2	4,4	4,4	3,6	5,3	7,2	5,7
	1,00	—	—	—	—	4,6	5,6	—

Hefe:		Rappoltsweiler	Johannisberg	Arry	Geisenheim	Pisport	Ungstein
Gehalt der Probe an Essigsäure, Proz.:	0,78	5,0	5,1	5,3	7,0	7,3	7,7
	0,88	9,0	5,2	6,4	5,3	9,4	—
	1,00	—	—	—	—	—	—

Der Schluß, welcher aus diesen Ziffernreihen hervorgeht, ist ebenso unerwartet als interessant: Die von der einzelnen Zelle geleistete chemische Arbeit war in 10 von 12 Fällen größer bei Gegenwart des höheren Säuregehaltes. Unbeschadet der Giltigkeit dieses Satzes ist noch die weitere Folgerung zu ziehen, daß auch in Hinsicht auf die Größe der chemischen Arbeit der Zellen die einzelnen Heferassen ganz bedeutend von einander abweichen. Um dies recht auffällig darzuthun, sei abermals auf die beiden Hefen Berncastel und Pisport hingewiesen. Unter ganz gleichen Bedingungen lieferte, einer Million Zellen der Ernte entsprechend, die erstere 1,6 mg, die letztere 3,7 mg Alkohol.

Das allgemeine Ergebnis dieser Versuche ist der Schluß, daß die einzelnen Weinhefenrassen durch die Essigsäure eine verschieden starke Beeinflussung ihrer Gärthätigkeit erleiden.

Es ist zu erwarten, daß die Verwendung anderer organischer Säuren, z. B. der Milchsäure, zu ähnlichen Ergebnissen führen und daß auch bezüglich dieser sich zeigen wird, daß die Entscheidung darüber, ob und wie die Gärung verläuft, nicht nur von der Größe des Säurezusatzes, sondern auch von der Art der Hefenrasse abhängig ist. Autoreferat.

Referate.

Rabinowitsch, Ueber die thermophilen Bakterien. (Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten. Bd. XX. Heft 1. S. 154 ff.)

Globig hatte die Beobachtung gemacht, daß es gewisse Bakterien giebt, welche ihr Wachstumsoptimum bei 50—70° haben. Verf. unternahm es, die Angaben desselben einer Nachprüfung zu unterziehen und weiter auszubauen. Es wurde das Verhalten dieser thermophilen Bakterien gegen verschiedene Nährböden und Temperaturen einerseits geprüft, andererseits wurde zu unterscheiden versucht, wo und unter welchen meteorologischen Verhältnissen diese Bakterien zu wachsen imstande sind. Die Züchtung und Isolierung der Bakterien auf Agar ist bei den hohen Temperaturen wegen des Auftretens von vielem Kondenswasser und schnellen Austrocknens nicht leicht, die Schwierigkeiten werden jedoch geschickt überwunden.

4 Arten ließen sich aus Erde isolieren, ferner wurden sie nachgewiesen im frisch aufgefangenen Schnee. Das Spreewasser enthielt

in 1 ccm 7000—8000 Thermophilen. Auch in Kuh- und Pferdedünger wurden sie gefunden. Ebenso fanden sie sich im Intestinaltraktus vom Pferde, Kuh, Ziege, Kaninchen, Meerschweinchen, Hund, Maus, Taube, Huhn, Ente, Papagei, Mensch, Frosch, Varanus Pythau.

Vom Kaninchen, Kuh und Maus konnten 3 weitere Arten isoliert werden.

Da die Bakterien im Magen nur in geringer Anzahl, im Dünndarme reichlich, im Dickdarme aber am zahlreichsten vorhanden waren, schließt Verf. auf eine Vermehrung der Bakterien im Tierkörper. Es gelang auch Kulturen der Bakterien bei 39° u. 40° C zu erhalten, anaërob trat sogar noch bei 33° C eine Vermehrung ein. Bei hoher Temperatur wachsen sie ebenfalls anaërob, aber viel langsamer als aërob bei niedrigerer, dagegen umgekehrt, gleichzeitig angelegte Kulturen entwickeln sich aber immer schneller aërob bei hoher als anaërob bei niedriger Temperatur.

Auch auf Hafer, Weizen und Gerste fanden sich die Thermophilen. Bei den verschiedenen Keimungszuständen der Gerste fanden sie sich am reichlichsten im Mittelstadium des Keimungsprozesses.

Hier wurde auch noch eine 8. Varietät gefunden.

Die verschiedenen Arten werden eingehend beschrieben und ihre morphologischen und biologischen Lebenseigenschaften mitgeteilt.

Pathogenität konnte für Mäuse und an einer Taube nicht festgestellt werden.

Verf. hält es für nicht unwahrscheinlich, daß die Thermophilen auch bei der Selbsterhitzung von Malz, Dünger, Wollsäcken, Heu, Tabakblättern eine gewisse Rolle spielen, doch liegen darüber keine besonderen Untersuchungen vor. O. Voges (Berlin).

Thumm, K., Beiträge zur Kenntnis der fluorescierenden Bakterien. (Arb. a. d. bakter. Inst. d. techn. Hochschule zu Karlsruhe. I. 1895. Heft 2. p. 291.)

Die vorliegende Arbeit bringt eine wesentliche Förderung unserer Kenntnisse über die Fluorescenzfarbstoffe bildenden Bakterien. Es ist hier zum ersten Male eine größere Zahl von Formen vergleichend untersucht worden. Es waren hauptsächlich die Fragen zu erörtern, ob die produzierten Farbstoffe überall die gleichen seien, ob die Produktion von der Entwickelung des Organismus abhängig sei, oder ob die Art des Nährmediums Einfluß habe u. s. w. Zur Beantwortung dieser Punkte war eine große Reihe von Kulturen notwendig, welche mit Benutzung verschiedener Nährmedien und wechselnder Menge organischer Stoffe angestellt wurden. Ueber die Art der Versuchsanstellung giebt das 2. Kapitel Auskunft und der spezielle Teil der Arbeit.

Wie immer bei Arbeiten, welche viele Thatsachen zur Beantwortung der gestellten Fragen brauchen, ist es nicht möglich, auf dieselben näher einzugehen; als Grundlage für jede spätere Arbeit können die mitgeteilten Thatsachen so wie so nicht umgangen werden. Zur Untersuchung gelangten Bacillus fluorescens tenuis, Bac. fl. putidus, Bac. fl. albus, Bac. erythrosporus, Bac.

viridans, Bac. pyocyaneus in 5 Formen, Bacterium syncyaneum in 2 Varietäten, von denen die β-Var. nur noch das stahlblaue Pigment zu bilden imstande war.

Am Schlusse der Arbeit werden die allgemeinen Ergebnisse aus der Untersuchung der Farbstoffe gezogen und seine chemischen Eigenschaften weiter erörtert. Die Resultate der gesamten Untersuchung faßt Verf. zusammen, woraus folgendes hervorgehoben sei:

1) Sämtliche fluorescierenden Bakterien zeigen in alkalischer Gelatine zuerst eine himmelblaue, später eine moosgrüne Fluorescenz und zugleich mit der letzteren eine Gelbfärbung des Substrates. Alte Kulturen besitzen ein orangerotes Aussehen und dunkelgrüne Fluorescenz (excl. Bac. fluorescens putidus).

2) Alle diese Färbungen sind auf einen gelben Farbstoff zurückzuführen, dessen konzentr. wässerige Lösung orangegelb und dessen verdünnte gelb ist. Beide Flüssigkeiten fluorescieren blau, unter Alkalizusatz dunkel- bis moosgrün.

3) Alle Arten produzieren den gleichen Farbstoff.

4) Alle sind Alkalibildner.

5) Die Versuche der Autoren, die einzelnen Färbungen auf Oxydationserscheinungen zurückzuführen, sind verfehlt.

6) Bacillus pyocyaneus bildet in Nährlösungen nur einen Farbstoff, nicht mehrere, wie frühere Forscher behaupteten.

7) Auf Kartoffeln und auf saurer Gelatine wird derselbe Farbstoff gebildet. Ammoniak erzeugt auch hier Fluorescenz.

8) Säurebildende Bakterien in derselben Kultur verhindern die Fluorescenz, welche Alkalizusatz wieder hervorruft.

9) Alle oxydieren Traubenzucker zu Säure, die von später gebildetem Ammoniak neutralisiert wird.

10) In Hydrochinongelatine bilden alle eine braunrote Färbung, hervorgerufen durch Einwirkung von Ammoniak auf Hydrochinon. Ein solcher Nährboden kann unter Umständen als Reagens auf Ammoniak dienen.

11) Das Verhalten der einzelnen Arten in Nährlösungen von verschiedenem organischem Gehalte ist so charakteristisch, daß er als vorzügliches diagnostisches Merkmal dienen kann.

12) Je nach der gebotenen Kohlenstoff- oder Stickstoffquelle ist der gleiche Organismus bald ein guter, bald ein schlechter Alkalibildner.

13) Nur an den Stellen, wo der Organismus mit Sauerstoff in Berührung kommt, erfolgen Lebensäußerungen (Farbstoff- und Ammoniakbildung).

14) Zur Produktion des Farbstoffes ist Chlorcalcium unwesentlich, Magnesiumsulfat und Kaliumphosphat wichtig; Phosphorsäure ist nicht durchaus dazu notwendig.

15) Für das Wachstum kann Kalk durch Magnesium ersetzt werden, für die Farbstoffproduktion nicht.

16) Die Blaufärbung einer Kulturflüssigkeit von Bac. pyocyaneus beim Fehlen der Phosphorsäure ist nie durch Pyocyanin verursacht, sondern auf Lichtbrechung zurückzuführen.

17) Bact. syncyaneum bildet 2 Farbstoffe, einen fluorescierenden und einen stahlblauen. Der erstere stimmt mit dem der anderen Arten überein. Der stahlblaue Farbstoff läßt je nach der Reaktion des Nährsubstrates Nuancen zwischen Stahlblau und Braunschwarz erkennen.

18) Der β-Var. des Bact. syncyaneum ist durch Kultivieren in milchsaurem Ammon und Ueberimpfen auf Nährgelatine die Fluorescenz wieder anzuzüchten. Lindau (Berlin).

Gruber, Th., Die Arten der Gattung Sarcina. (Arb. a. d. Bakteriol. Inst. d. techn. Hochsch. zu Karlsruhe. Bd. I. 1895. Heft 2. p. 239.)

Die Arbeit giebt eine monographische Bearbeitung der Arten der Gattung Sarcina. Zur Unterscheidung der Arten wurden außer den wenigen vorhandenen morphologischen Merkmalen die biologischen in Betracht gezogen, wie sich aus der Bestimmungstabelle ergeben wird. Eine Cellulosemembran ist nicht vorhanden; die angegebene Endosporenbildung konnte trotz vieler Bemühung nicht gefunden werden. Der spezielle Teil bringt die Beschreibung der einzelnen Arten und die Schilderung der Kulturergebnisse.

Statt weiterer Einzelheiten sei die Bestimmungstabelle der Arten mitgeteilt, welche Verf. am Schlusse der Untersuchung giebt.

I. Arten, deren Kolonieen auf festen Substraten mit weißer Farbe wachsen.
  1) Typische Pakete in festen und flüssigen Nährsubstraten bildend.
    a) Gelatine verflüssigend.
      α) Kolonieen der Plattenkultur rund.
        A. Gelatine langsam verflüssigend. S. alba Zimmerm.
        B. Gelatine schnell verflüssigend. S. alutacea n. sp.
      β) Kolonieen der Plattenkultur von unregelmäßiger Gestalt.
        Gelatine schnell verflüssigend. S. incana n. sp.
    b) Gelatine nicht verflüssigend.
      α) Kolonieen der Plattenkultur rund. S. pulchra Henrici.
      β) Kolonieen der Plattenkultur von unregelmäßiger Gestalt.
        A. Deutliches Oberflächenwachstum zeigend.
          S. pulmonum Virch.
        B. Kein ausgesprochenes Oberflächenwachstum zeigend.
          Heuaufguß trübend. S. lactea n. sp.
          Heuaufguß klar bleibend. S. vermicularis n. sp., S. minuta de By.
  2) Nur in flüssigen Nährsubstraten typische Packete bildend.
    a) Gelatine verflüssigend.
      α) Nur in Heuaufguß Pakete bildend. S. candida Reinke.
      β) Nur in Bouillon Pakete bildend. S. albida n. sp.
    b) Gelatine nicht verflüssigend.
      α) Auf Gelatine nicht wachsend. S. Welkeri Roman.
      β) Auf Gelatine wachsend.
        A. In Bouillon typische Pakete bildend.
          S. nivea Henrici.

B. In Heuaufguß typische Pakete bildend.
S. ventriculi Goods.

II. Farbstoff bildende Arten.

§ Gelben Farbstoff bildend.

1) In festen und flüssigen Nährsubstraten typische Pakete bildend.

a) Gelatine verflüssigend.

α) Kolonieen der Plattenkultur rund.

A. Langsam wachsend, Gelatine rasch verflüssigend.

B. Gelatine langsam verflüssigend. S. flava de By.

Bouillon bleibt immer hell, in sämtlichen Nährböden Pakete bildend. S. superba Henrici.

Bouillon wird nicht getrübt; nur in Gelatine und Bouillon Pakete bildend. S. olens Henrici.

Bouillon anfangs trüb, dann wieder hell; in sämtlichen Nährlösungen Pakete bildend.
S. aurescens Gruber.

β) Kolonieen der Plattenkultur von unregelmäßiger Gestalt. In sämtlichen Nährlösungen Pakete bildend.
S. liquefaciens Frankl.

γ) Mit dem Alter der Kulturgeneration die Fähigkeit, Farbstoff zu bilden und die Gelatine zu verflüssigen, verlierend. S. aurea Macé.

b) Gelatine nicht verflüssigend.

α) Kolonieen der Plattenkultur rund.

A. Langsam wachsend. S. lutea Schroet.

B. In allen Nährsubstraten typische Pakete bildend; Bouillon und Heuaufguß werden getrübt.
S. livida n. sp.

C. In Bouillon Tetraden, im Heuaufguß Pakete bildend; Bouillon und Heuaufguß bleiben klar.
S. meliflava n. sp.

β) Kolonieen der Plattenkultur von unregelmäßiger Gestalt.

A. In allen Nährsubstraten typische Pakete bildend. Auf Gelatine schnell, auf Agar langsam wachsend.
S. luteola n. sp.

Wurmförmiges Wachstum auf Gelatine-Strichkultur.
S. vermiformis n. sp.

Rein citronengelben Farbstoff bildend.
S. citrina n. sp.

Kolonieen, in gelbes Pulver zerfallend.
S. striata n. sp.

Deutliches Oberflächenwachstum zeigend.
S. marginata n. sp.

B. Nur in flüssigen Nährmedien Pakete bildend. Gas produzierend. S. gasoformans n. sp.

2) Nur in flüssigen Nährsubstraten typische Pakete bildend.

a) Kolonieen der Plattenkulturen rund; Gelatine verflüssigend. Farbstoff hellschwefelgelb; Gelatine langsam verflüssigend.
S. flavescens Henrici.

Farbstoff orangegelb; Gelatine rasch verflüssigend.
S. aurantiaca Lindn.

b) Kolonieen der Plattenkultur von unregelmäßiger Gestalt. Gelatine nicht verflüssigend.
Bouillon anfangs trübe, später wieder hell.
S. súlfurea Henrici.
Bouillon und Heuaufguß immer klar bleibend.
S. velutina n. sp.

c) Kolonieen anfangs unregelmäßig, dann rund werdend. Gelatine nicht verflüssigend.
Bouillon mit leichter, konstanter Trübung; Heuaufguß immer hell. S. intermedia n. sp.

§§ Farbstoff rot.

1) In festen und flüssigen Nährsubstraten typische Packete bildend. Gelatine nicht verflüssigend. Kolonieen der Plattenkultur rund.
In Bouillon nur Pakete, in Heuaufguß Kokken und Diplokokken, auf festem Substrate Pakete. Fleischfarbstoff erzeugend. S. carnea n. sp.
In allen Kulturen neben Paketen Kokken. Blaßrosa fleischfarbigen bis dunkel fleischroten Farbstoff bildend.
S. incarnata n. sp.

2) Nur in flüssigen Nährsubstraten typische Pakete bildend.
a) Gelatine verflüssigend. S. rosea Schroet.
b) Gelatine nicht verflüssigend. S. persicina n. sp.

§§§ Farbstoff braun.

1) In festen und flüssigen Nährsubstraten typische Pakete bildend. Gelatine nicht verflüssigend. S. fusca n. sp.

2) Nur in flüssigen Nährsubstraten typische Pakete bildend. Gelatine nicht verflüssigend. S. fuscescens de By.

Lindau (Berlin).

Wacker, Ueber Fleischkonservierung. (Chemikerzeitung. 1895. p. 903.)

Da das deutsche Nahrungsmittelgesetz den Zusatz von Desinfektionsmitteln verbietet, so liegt der Schwerpunkt bei der Konservierung von rohem Fleische nach vorliegendem Verfahren darin, daß man diese Konservierungsmittel, nachdem die Bakterien abgetötet sind, wiederum fortwäscht, ohne das Fleisch dadurch von neuem zu infizieren. In ein geeignetes Gefäß kommen z. B. 5 kg frisches, rohes Fleisch, nachdem letzteres zuvor mit einer etwa 2-proz. Lösung von Natriumpersulfat gewaschen worden war. Es wird hierauf der Deckel gut aufgelötet und in ein am Deckel befindliches Ansatzrohr ca. 1 l obiger Desinfektionsflüssigkeit eingefüllt und das Fleisch durch Bewegen des Gefäßes mit der Flüssigkeit in Berührung gebracht. Nach ca. 3 Minuten läßt man die Desinfektionsflüssigkeit in einen Topf abfließen. Da hierbei Luft in das Gefäß nachströmt, so passiert dieselbe einen Reinigungsapparat. Ein zweites ähnliches Gefäß wird mit Wasser gefüllt und letzteres etwa $^1/_2$ Stunde gekocht. Das erkaltete sterile Wasser läßt man dann durch eine ein-

fache Schlauchverbindung in das Gefäß, in welchem sich das Fleisch befindet, einfließen. Das Waschwasser fließt dann wieder in denselben Topf. Diese Operation hat den Zweck, das Fleisch von dem Desinfektionsmittel zu befreien und wird so lange fortgesetzt, bis das ablaufende Wasser kein Desinfektionsmittel mehr enthält. Hierauf wird nun das Gefäß hermetisch verlötet. Vor Beginn der Konservierungsarbeit werden sämtliche Apparate in geeigneter Weise durch strömenden Dampf oder durch Erhitzen sterilisiert. Es ist auf diese Weise gelungen, rohes Fleisch vollkommen frisch zu erhalten, die Versuche gehen bis jetzt auf 6 Monate (bei Zimmertemperatur) zurück. Der Geschmack des Fleisches war vollkommen normal; es ließen sich an der Oberfläche des Fleisches durch Färben einer Probe mit Ziehl'scher Lösung auf dem Deckglase mikroskopisch keinerlei Mikroorganismen nachweisen. A. Stift (Wien).

Sadebeck, Ueber das Auftreten und die Verbreitung einiger Pflanzenkrankheiten im östlichen Alpengebiete, namentlich in Tyrol. (Forstlich-naturwissenschaftliche Zeitschrift. Jahrgang IV. 1895. Febr. p. 82—88.)

Seit 1869 wurden diese Beobachtungen bereits begonnen und fast alljährlich wiederholt bez. verglichen. Anlaß zu der Veröffentlichung gab die neuerdings starke Verbreitung einiger dieser Affektionen. Sadebeck macht auf die entstehenden Gefahren aufmerksam und giebt in mehreren Fällen Mittel zur Bekämpfung an.

1) Gnomonia erythrostoma Fuckel. Ein großer Teil der Kirschbäume ist bereits zu Grunde gegangen, während vor 20 Jahren keine Spur dieser Krankheit in Südtyrol aufzufinden war. Verf. empfiehlt, die nach dem Laubfalle an den Zweigen der Kirschbäume noch hängenden Blätter abzupflücken und zu verbrennen, wodurch in Holstein u. s. w. infolge der Anregung Frank's die genannte Krankheit ihren epidemischen Charakter verloren hat. — Auch in der Schweiz wie im südlichen Württemberg ist diese Krankheit ungemein verbreitet, ohne daß dagegen eingeschritten würde.

Wann der Pilz zuerst aufgetreten ist, erscheint unsicher. Magnus erwähnt in seinem ersten Verzeichnis der Pilze Graubündens die Gnomonia erythrostoma gar nicht (erschien 1890).

2) Polystigma rubrum (Pers.) DC. namentlich auf Prunus spinosa in Südtyrol sehr verbreitet, auch auf Prunus domestica und insititia aufgefunden, scheint der Nährpflanze nicht so schädlich zu sein wie die Gnomonia. In Böhmen traf Verf. dagegen 1890 eine erhebliche Schädigung der Pflaumenbäume durch den Pilz an.

3) Protomyces macrosporus Ung. ist in den Alpen weiter verbreitet, als man annimmt. Meumarten sind fast stets infiziert; in Südtyrol ist er merkwürdigerweise auf Aegopodium Podagraria nicht erheblich verbreitet, wohl aber auf Heracleum sphondylium stellenweise; Carum carvi ist eine häufige Nährpflanze. Das Intermittieren auf dem Heracleum ist wohl nur auf äußere oder zufällige Ursachen zurückzuführen, da es bei anderen

Pflanzen nicht oder nur in einem beschränkten Maße sich zu zeigen pflegt.

4) Taphrina Ostryae Maß. bisher in Tyrol übersehen; nur wenige Bäume und Sträucher der Ostrya sind aber von der Infektion verschont, erstere meist nur an den unteren Aesten und Zweigen, letztere gänzlich befallen. Auch Ostrya virginica erhielt Verf. mit einer bisher unbekannten Taphrinaspecies infiziert.

Merkwürdig ist der Umstand, daß nach unseren heutigen Kenntnissen nur bei Aspidium und Pteris, dann bei Populus, Alnus, Betula, Carpinus, Ostrya, Quercus, Ulmus, Celtis, Agrostemma, Rhus, Acer, Peucedanum, Heracleum, Potentilla, Prunus, Mespilus, Pirus und Cydonia Erkrankungen durch Exoasceen auftreten.

Sadebeck weist dann noch kurz auf massenhaftes Auftreten von Calyptospora Goeppertiana Kühn, Puccinia graminis, Rhytisma salicinum (Pers.) Fr. u. s. w. hin, während in den Alpen allgemein verbreitete Pilze wie das Aecidium von Chrysomyxa Rhododendri, Exobasidium Vaccinii und Rhododendri u. s. w. in die Besprechung nicht mit aufgenommen worden sind. E. Roth (Halle a. S.).

Sorauer, P., Phytopathologische Notizen. I. Pestalozzina Soraueriana Sacc., ein neuer Schädling des Wiesenfuchsschwanzes. (Zeitschr. für Pflanzenkrankheiten Bd. IV. 1894. p. 213—215. Mit Fig.)

Alopecurus-Pflanzen, die dem Verf. von Weinzierl aus dem alpinen Versuchsfelde der Wiener Samenkontrollstation bei Aussee übersandt wurden, wiesen neben Flecken auf den Blättern starke Deformation der Inflorescenzen auf, die vom Verf. näher beschrieben werden. Zwischen den Zellen (und innerhalb derselben) der braunen Flecke wuchert ein farbloses Mycel, das auf die Ober- und Unterseite hinaus Konidienrasen sendet. Die Konidien sind spindel- oder rübenförmig, bisweilen auch cylindrich, kurz zugespitzt, 3—6- (meist 4-) zellig und mit 1—3 Wimpern versehen. Der Pilz gehört in die Gattung Pestalozzina Sacc. und wurde von Saccardo als P. Soraueriana bezeichnet; er ist nach Verf. die Ursache der Erkrankung, und sich auf den geschwächten Pflanzen mit Vorliebe ansiedelnde Tiere vervollständigen die Zerstörung. Falls Kupfermittel nicht helfen, wäre zur Mischsaat zu greifen, denn am ausgeprägtesten war die Schädigung der Pflanzen in den Reinsaaten.

Wehmer (Hannover).

Frank, Neue Untersuchungen über Phoma Betae. I. Teil. (Zeitschrift des Vereins für die Rübenzuckerindustrie des Deutschen Reichs. 1895. p. 157.)

In dem ersten Teile erörtert Frank die Ursache und das Wesen der Krankheit, welche dem Zuckerrübenbau, besonders in den letzten drei Jahren, große Verluste zugefügt hat. Verf. hat sich über diese Krankheit schon vor 3 Jahren eingehend verbreitet und

in der vorliegenden Abhandlung wurden die Untersuchungen über die Lebensbedingungen von Phoma Betae und über die Faktoren, welche das Auftreten der Krankheit beeinflussen, sowie über Erprobung von Gegenmitteln bei Feldversuchen weiter fortgesetzt.

Die Krankheit äußert sich zuerst durch das Auftreten der Herzfäule, gewöhnlich gesellt sich dazu auch eine Erkrankung des Rübenkörpers, und zwar die Trockenfäule, so daß die beiden Krankheitserscheinungen meistens sogar an einer und derselben Pflanze vereinigt sind. Als Erreger der Krankheit wird der Pilz Phoma Betae angesehen und Frank schließt aus seinen Untersuchungen, daß die Rübenfäule und wahrscheinlich auch Phoma Betae über die hauptsächlichsten rübenbauenden Länder Europas verbreitet sind. Die Verluste, welche die Rübenerträge durch die Herz- und Trockenfäule erlitten haben, lassen sich in ihrer Gesamtheit schwer berechnen, weil sie je nach Schlägen in ungleichem Grade sich zeigen. Die ausgedehnten Untersuchungen über die Abhängigkeit der Krankheit von Witterungs- und Bodenverhältnissen haben gezeigt, daß diejenigen Bodenverhältnisse, welche das Austrocknen des Untergrundes bei Eintritt anhaltend trockenen Wetters am meisten begünstigen, auch das Auftreten der Krankheit am meisten befördern. Freilich giebt es außer der Trockenheit des Wetters und des Erdbodens noch einen Faktor, der gegeben sein muß, um die Krankheit entstehen zu lassen, nämlich die Gegenwart des spezifischen Parasiten und die wirklich erfolgte Infektion der Rübenpflanze durch denselben, ohne welche keine Herz- und Trockenfäule entstehen kann. Durch frühere Untersuchungen wurde bereits festgestellt, daß Phoma Betae ein konstanter spezifischer Begleiter der Herz- und Trockenfäule ist. Ein Beweis dafür, daß in Phoma Betae auch die Ursache dieser Krankheit liegt, ist dies freilich nicht; aber daß in einer konstanten Verbindung zweier Dinge auch eine bestimmte innere Beziehung verborgen liegen muß, ist doch wohl nicht von der Hand zu weisen. Es fragt sich nur, ob diese Beziehung dahin aufzufassen ist, daß der Pilz der spezifische Erreger derjenigen Fäulniserscheinungen ist, in welchen diese Rübenkrankheiten bestehen. Auch für diese Frage lag durch die Untersuchungen von Krüger schon Forschungsmaterial vor, welches Berücksichtigung verdiente, ehe man die infektiöse Natur von Phoma Betae bestreiten durfte. So ist es Krüger u. A. seinerzeit gelungen, Wurzelbrand mit Phoma Betae künstlich hervorrufen zu können. Frank hat nun im Jahre 1894 eine Reihe von Versuchen angestellt, deren Resultate hoffentlich volle Klarheit über die Beteiligung der mangelnden Faktoren bei der Entstehung der Herz- und Trockenfäule verbreiten werden. Es hat sich vor allem gezeigt, daß Herz- und Trockenfäule durch Trockenheit allein nicht hervorgerufen werden können; die Trockenheit begünstigt die Keimung von Phoma Betae nicht, sondern schwächt dieselbe eher ab. Der konstatierte Einfluß der Trockenheit muß vielmehr darin seinen Grund haben, daß die Rübenpflanze dadurch an Widerstandsfähigkeit gegen den Pilz verliert. Die Versuche lehren auch, daß Phoma Betae in gesunde Rübenblätter nicht eindringt, wohl aber mit großer Leichtigkeit und Schnelligkeit in solche Blattstiele, welche

durch beginnendes Abwelken geschwächt sind. Von Wichtigkeit ist jedoch der Umstand, daß die Herzblätter der Rübe, wenn sie sonst gesund und frisch sind, durch die Sporen von Phoma Betae nur an Wundstellen infiziert werden, an solchen aber auch sicher, und wenn dieselben noch so klein sind.

Daß Wundstellen aber auch am Rübenkörper für den Angriff von Pilz und Krankheit am günstigsten sind, sieht man daran, daß sehr oft gerade die Fraßstellen von Erdraupen oder Engerlingen an den Rüben sich als die Ausgangspunkte der Trockenfäule zeigen. Phoma Betae ist also ein wirklicher Parasit und Krankheitserreger, der sich dadurch charakterisiert, daß er sich am leichtesten als Saprophyt auf toten Rübenteilchen, aber auch als Parasit auf der lebenden Rübenpflanze, jedoch nur, wenn dieselbe geschwächt oder verwundet ist, entwickelt. Wahrscheinlich ist Phoma Betae ein in den Rübenböden sehr verbreiteter Pilz, der jedoch auf Böden mit genügender Feuchtigkeit und in Jahren mit ausreichenden Niederschlägen für die Rübenpflanzen so gut wie ungefährlich ist. Phoma Betae besitzt aber noch eine wichtige Eigentümlichkeit, indem er nicht bloß im Stadium der Sporenkeimung, sondern auch im Zustande des entwickelten Myceliums infektiöse Kraft besitzt. Frank ist der Meinung, daß, sobald das Mycelium parasitär zur Entwickelung gelangt ist, in dem befallenen Pflanzengewebe besondere Stoffe entstehen, welche etwa nach Art von Fermenten eine vergiftende Wirkung auf lebende Zellen ausüben und sich leicht auf diese übertragen. Dadurch wird aber gerade dem Pilze der Boden für sein Weiterdringen vorbereitet, weil er leichter in geschwächte oder tote Zellen eindringt und dort sich ernährt, als in völlig lebenskräftige. Auf jeden Fall steht fest, daß man die Möglichkeit einer, sei es mittelbaren, sei es unmittelbaren, vergiftenden Wirkung des Pilzes auf die Rübenpflanze annehmen muß, die bei der Uebertragung der Krankheit eine Rolle spielen dürfte und von der man vielleicht noch nicht vollkommen übersehen kann, in welchem Umfange sie für die Praxis in Betracht kommt.

Phoma Betae bringt an der Rübenpflanze tiefgreifende Veränderungen in den Geweben hervor und ist das Endstadium der Gewebekrankheit die unter Schwarzbraunfärbung eintretende völlige Verrottung des Gewebes. Die Rübenpflanze besitzt jedoch, außer der natürlichen Widerstandskraft, durch die Bildung einer neuen Korkschicht, welche hinter dem erkrankten Gewebe auftritt und die gesunden Partieen von dem erkrankten Teile abgrenzt, ein Mittel, um sich gewissermaßen gegen das Eindringen des Feindes zu wehren. Ein weiterer wichtiger Einfluß liegt in der zuckerzerstörenden Wirkung des Pilzes, durch welche ein Teil des Rohrzuckers in der Rübe in Traubenzucker umgesetzt wird, also in eine für die Zuckerindustrie ungeeignete Zuckerart.

In dem noch zu erscheinenden zweiten Teile der Arbeit will Frank auf die Lebensweise von Phoma Betae, insofern sie für die Bekämpfung der Rübenfäule von Bedeutung ist, sowie auf die Erörterung der Gegenmaßregeln und anderer für die Praxis in Betracht kommenden Dinge eingehen. A. Stift (Wien).

Frank, M., Neue Untersuchungen über Phoma Betae. 2. Teil. (Zeitschrift des Vereins für die Rübenzucker-Industrie des Deutschen Reichs. 1895. p. 271.)

Verf. hat in dem ersten Teile seiner Arbeit das Wesen und die Ursache dieser Zuckerrübenkrankheit erörtert; in dem vorliegenden zweiten Teile bespricht er die Lebensweise von Phoma Betae, insofern sie für die Bekämpfung der Rübenfäule von Bedeutung ist, sowie auch die verschiedenen in der Praxis eventuell anzuwendenden Gegenmaßregeln. Was zuerst die Entstehung der Keime anbetrifft, so ist hervorzuheben, daß Phoma Betae wie jeder Pilz seine Keime selbst erzeugt. Auf der erkrankten Rübenpflanze, in welcher das Mycelium des Pilzes sich entwickelt hat, werden auch die Fruchtorgane desselben, die Pykniden, d. h. die kleinen Kapseln, welche die massenhaften Sporen zur Welt bringen, gebildet, und zwar als Erzeugnis des Myceliums. Die Sporenbildung ist eine ganz enorme, nachdem man den Inhalt einer jeden Pyknide von Phoma Betae auf ca. 160000 Sporen schätzen darf. Es ergiebt sich daraus, daß die Zahl der Phomakeime, welche durch eine einzige herzfaule Rübenpflanze dem Ackerboden einverleibt wird, auf viele Millionen zu schätzen ist. Von einem Vorkommen von Phoma Betae auf anderen Pflanzen als Runkel- und Zuckerrüben in der freien Natur ist Verf. nichts bekannt geworden, nur wird man nach durchgeführten Versuchen die Möglichkeit zugeben müssen, daß krautartige Pflanzen, wie Chenopodium album (das bekannte gemeine Unkraut) und ähnliche, wenn solche an den Rändern kranker Rübenschläge wachsen, nachdem sie selber abgestorben oder auch von Frost getötet sind, gelegentlich Phoma Betae annehmen und zur Fruktifikation gelangen lassen können. Von praktisch hochwichtiger Bedeutung ist aber die Frage nach dem Schicksale der Sporen des Pilzes im Ackerboden. Versuche haben nun gelehrt, daß die in dem Ackerboden verbleibenden Sporen von Phoma Betae daselbst an der Keimung verhindert und in einen Ruhezustand übergeführt werden, in welchem sie unverändert, aber keimfähig lange Zeit verharren, und aus welchem sie durch Feuchtigkeit und Wärme allein nicht erweckt werden können, während die Gegenwart von Rübensaft oder diejenige der Rübenpflanze selbst sie zu jeder beliebigen Zeit zum Leben bringt.

Es muß daher derjenige Ackerboden, auf welchem Phomakranke Rüben gestanden haben, als infiziert und als Träger der Ansteckung gelten. Nachdem Phoma Betae durch die Wirkung des Magensaftes getötet wird, so ist dieser Pilz für den tierischen Organismus unschädlich, ebenso wie auch weiter durch die Verfütterung keine Gefahr einer Weiterverschleppung des Pilzes zu befürchten ist. Dasselbe ist auch bei dem Einsäuern der Rübenschnitzel der Fall, bei welcher Manipulation ebenfalls der Pilz abgetötet wird.

Die bisher vorgenommenen Feldversuche zur Bekämpfung von Phoma Betae haben noch kein erfolgreiches direktes Gegenmittel erbracht; sie waren aber insofern nicht erfolglos, als sie die Nutzlosigkeit weiterer Anwendung jener Mittel (Düngung, Bodenbearbeitung, Desinfektion des Rübensamens, Desinfektion der Rübenpflanzen

durch Bespritzen mit Kupfervitriol-Kalkbrühe, Desinfektion des Ackerbodens u. s. w.) festgestellt haben und somit den Landwirten unnötige Auslagen erspart werden. Immerhin liegen aber noch verschiedene Bekämpfungsmittel im Bereiche praktischer Möglichkeit, die eine Einschränkung der Krankheit bewirken würden. Diese Mittel sind nun die folgenden: 1) Für den Rübenbau ist denjenigen Gegenden der Vorzug zu geben, deren klimatische Verhältnisse vor der Krankheit am meisten schützen. 2) Zu Rübenschlägen soll man diejenigen Lagen wählen, welche am wenigsten zur Austrocknung in den tieferen Bodenschichten inklinieren. 3) Möglichst frühzeitige Entfernung des kranken Pflanzenmateriales von den Rübenschlägen und 4) Desinfektion des Samens. Zu letzterem Punkte empfiehlt sich das 48-stündige Einbeizen der Rübensamen in einer 2-proz. Kupfervitriol-Kalkbrühe, obwohl diese Desinfektion natürlich den Befall der Rübenpflanzen durch die schon im Erdboden vorhandenen Sporen von Phoma Betae nicht verhüten kann. A. Stift (Wien).

Riehl, F. W., Die Herzfäule der Rüben und Phoma betae, eine Laienansicht. Vortrag gehalten im Breslauer landwirtschaftl. Verein am 5. März 1895. (Der Landwirt, schlesische landwirtschaftl. Zeitung. 1895. No. 22.)

Verf. behauptet, daß die Herzfäule der Rüben, die von Prof. B. Frank als neue Krankheit bezeichnet und einem neu entdeckten Pilz, Phoma Betae, zugeschrieben wird, schon von mehreren Anderen lange vorher beschrieben und vom Verf. selbst schon seit dem Jahre 1886 beobachtet worden sei. Nach seiner Ansicht hat man es mindestens mit zwei völlig verschiedenen Krankheiten zu thun, von denen die eine durch Zufuhr von Feuchtigkeit gehoben werden könne, während die andere durch Feuchtigkeit gefördert wird. Die Krankheitserscheinungen der ersten Art sind: Die Blätter werden heller, dann mißfarben, endlich schwarz und dürr, die Rübe zeigt sich oberflächlich schorfig und zundrig. Nach einem Regen bildet sich eine neue Blätterkrone. Die Krankheitserscheinungen der zweiten Art zeigen sich zuerst an den Rüben, während die Blätter noch anscheinend gesund sind. Unter der Rinde zeigen die Rüben mattglänzende, lichtbraune Flecken, die sich ausbreiten und dunkel werden. Das Gewebe wird torfig, zundrig, die Rinde zuletzt krebsartig zerfressen. Schließlich faulen auch die Blätter ab. Durch Regen geht die Rübe rasch in Fäulnis über. Letztere Krankheit tritt seltener auf. Nach Verf.'s Erfahrungen kann Phoma betae der Krankheitserreger nicht sein, Prof. Frank habe es auch nicht bewiesen, da weder seine Mittel zur Bekämpfung etwas genützt, noch eine Ansteckung durch diesen Pilz gelungen sei. Die Ursache der Krankheit sei vielmehr große Trockenheit und die infolge derselben zu konzentrierte Nährstofflösung. Reicher Stickstoffgehalt des Bodens macht die Pflanzen widerstandsfähiger. Ph. Manck (Weihenstephan).

Krüger, Friedr., Ueber ein neuerdings auftretendes, durch den Samen übertragbares Mißraten der Erbsen. (Deutsche landwirtschaftl. Presse. 1895. No. 33.)

Verf. beobachtete 2 Fälle von Mißraten der Erbsen, veranlaßt durch den auf Erbsen schon bekannten Pilz „Ascochyta Pisi Lib.“ Dieser verbreitete sich vom Wurzelhalse aus und brachte in kurzer Zeit die Pflanzen zum Absterben. Ueberall konnten das Mycel und die Pykniden des Pilzes beobachtet werden. Verf. konstatierte, daß der Pilz in den zur Aussaat verwendeten Erbsen schon vorhanden war. Diese zeigten äußerlich dunkelgrüne Flecken und im Innern konnte das Pilzmycel nachgewiesen werden. Bei 1—2-tägigem Liegen in Wasser sprossen die Fäden aus den betreffenden Stellen und bedecken als weißer Rasen die Erbse. Im Keimapparate entwickeln sich daraus schon nach 2—3 Tagen die Pykniden mit Sporen. Desinfektions- und Beizmittel vernichten den Pilz nicht, weil er zu tief im Innern sitzt, wohl aber schaden sie dem Keime, da dieser zu exponiert liegt. Auch Erhitzen ist erfolglos.

Verf. rät daher, man wolle nur Erbsen aus gesunden Schoten zur Aussaat verwenden, oder die Erbsen durch Einlegen in Wasser auf das Vorhandensein des Pilzes prüfen.

Ph. Manck (Weihenstephan).

Sorauer, Paul, Ueber die Wurzelbräune der Cyclamen. (Zeitschrift f. Pflanzenkrankheiten. Bd. V. 1895. Heft 1.)

Bei der Untersuchung von Cyclamen, deren Wurzeln mehr oder weniger an der Basis der Knolle abgestorben waren, fand der Verf. als die Ursache dieser Krankheit einen Pilz, der bereits als Veranlassung zur Wurzelbräune der Lupine (Zeitschr. f. Pflanzenkrankheiten. 1891. p. 72) beschrieben worden ist und den Namen Thielavia basicola von Zopf erhalten hat. Er gehört seiner vollkommenen Fruchtform zufolge in die Nähe der echten Meltaupilze, zu den mit geschlossenen Schlauchfrüchten verbleibenden Perisporiaceen.

An den schwarzfleckigen oder teilweise mit Faulstellen versehenen Wurzeln fanden sich reichlich Knospenlager dieses Pilzes; die zusammengesetzten, dem Helminthosporium ähnlichen Knospen zerbrachen leicht in ihre einzelnen Glieder und diese rundeten sich ab, so daß sie das Ansehen sehr großer Brandsporen erhielten. Eine Keimung derselben konnte nicht beobachtet werden; dagegen sah man das anfangs helle, später dunkelbraune Mycel in reichlicher Verzweigung die Wurzeln abwärts umspinnen und mit seinen jüngsten Spitzen auch bereits an den Wurzelspitzen der Cyclamen, ohne daß jedoch an diesen Stellen ein Eindringen der Pilzfäden wahrzunehmen war. Auch die Wurzeln der Sämlinge waren stellenweise bereits mächtig von Mycel umsponnen, aber im ganzen noch nicht wesentlich erkrankt. Hier hatte der Pilz noch keine Konidienlager entwickelt und war zu einer tief schädigenden Wirkung noch nicht gelangt.

Da die den Pflanzenwurzeln anhaftenden verwesenden Blattreste der Erde sich auch reichlich von dem hier tief dunkelbraunen Mycel durchsponnen zeigten, lag die Vermutung nahe, daß die für die Cyclamen verwendete Erde bereits verseucht sei. Die Untersuchung der eingeforderten Erdproben bestätigte vollauf diese Vermutung. Namentlich reichlich waren die Mycelfäden in einer Buchenlauberde zu finden, während eine zweite, aus gemischtem Laube hervorgegangene

Erde weniger verpilzt erschien. Da nun bei den früheren Beobachtungen von Zopf der Pilz auch als Krankheitserreger an Erbsen und anderen Schmetterlingsblütlern sowie am Kreuzkraut (Senecio elegans) sich ergeben hat, so liegt die Vermutung nahe, daß die Thielavia in Bodenarten mit reichem Humusgehalte sehr verbreitet ist, aber nicht immer die Pflanzen angreift, sondern nur dann die Wurzelbräune erzeugt, wenn die Gewächse aus irgend einer anderen Ursache besonders günstig für die Ansiedelung des Pilzes sich erweisen. Als solche Ursachen können gelten starker Dungguß, übermäßige Bewässerung bei reichlicher Wärme u. dgl.

Im Falle einer Erkrankung unserer Kulturpflanzen durch die Thielavia wäre den Pflanzen eine sandigere, weniger fette Erde zu geben und die Düngung gänzlich auszusetzen. Bei Gewächsen, die in Mistbeetkästen warm kultiviert werden, ist stärkere Lüftung, vermehrte Zulassung der Sonne und vermindertes Gießen zu empfehlen. Erweisen sich fette Lauberden stark verpilzt, möchten ein häufiges Umstechen der Erdhaufen, denen Aetzkalk zugeführt wird, und bei der Verwendung ein stärkerer Zusatz von Sand nützlich sein.

Hollborn (Rostock).

Thaxter, Roland, Notes on Laboulbeniaceae XXVI. (Contributions from the Cryptogamic Laboratory of Harvard University Proceed. of the American Academy. Vol. XXX. N. S. XXII. p. 467—481.)

Die merkwürdige Familie der auf Insekten schmarotzenden Laboulbeniaceen, von der die neue Ausgabe von Rabenhorst's Kryptogamenflora Deutschlands 1887 nur ein Dutzend Arten aufzählt, ist seit dieser Zeit durch den Verf. zum Gegenstande fortgesetzter Untersuchungen gemacht geworden. Dieselben waren so erfolgreich, daß wir jetzt bereits 23 Gattungen mit mehr als 130 Arten von Laboulbeniaceen kennen (wovon auf Europa gegen 20 Arten kommen). Die vorliegende Abhandlung enthält die Beschreibung der folgenden zuletzt entdeckten neuen Arten und Gattungen:

1) Rhachomyces speluncalis n. sp. et n. gen. auf Anophthalmus pusio Horn. aus Westvirginien. Der früher gegebene Gattungsname Acanthomyces wird, da bereits anderweitig vergeben, eingezogen und dafür Rhachomyces gesetzt (mit den alten Arten: Rh. longissimus, lasiophorus, hypogaeus, Lathrobii, furcatus, pilosellus).
2) Diplomyces Actobianus n. gen. et n. sp. auf Actobius nanus Horn., Massachusetts.
3) Eucantharomyces Atrani n. gen. n. sp. auf Atranus pubescens Dej., Virginien.
4) Sphaleromyces occidentalis n. sp. auf Pinophilus densus Lec., Utah.
5) Heimatomyces distortus n. sp. auf Laccophilus maculosus Germ., Connecticut.
6) H. uncigerus n. sp. auf Laccophilus maculosus Germ., Connecticut.

7) H. spinigerus n. sp. auf Laccophilus maculosus Germ., Connecticut.
8) Dichomyces princeps n. sp. auf Philonthus sordidus Grav., Massachusetts.
9) Ceratomyces confusus n. sp. auf Tropisternus glaber Hb. und T. nimbatus, Neu-England.
10) Laboulbenia Hageni n. sp. auf Termes bellicosus var. Mozambica Hagen., Afrika.
11) L. Kunkelii (Giard) = Thaxteria Kunkelii Giard auf Mormolyce phyllodes Hagenb.
12) L. Palmella n. sp. auf Mormolyce phyllodes Hagenb., Perak, Molukken, Java.
13) L. melanotheca n. sp. auf Galerita mexicana Chaud., Nicaragua.
14) L. decipiens n. sp. auf Galerita aequinoctialis, Guatemala.
15) L. aspidoglossae n. sp. auf Aspidoglossa subangulata Chaud., Kansas.
16) L. macrotheca n. sp. auf Anisodactylusarten, Maine, Bathurst N. B.
17) L. terminalis n. sp. Pterostichus luctuosus Dej., Maine und Massachusetts.
18) L. rigida n. sp. auf Pterostichus patruelis Dej., Maine und Massachusetts.
19) L. confusa n. sp. auf Bembidium sp., Connecticut.
20) L. cornuta n. sp. auf Bembidium campanulatum Mann., Washington.
21) L. Oberthuri Giard in lit. auf Orectogyrus heroe Reg., Madagaskar.

Ludwig (Greiz).

Sajó, Karl, Die Nahrungspflanzen der Insektenschädlinge. (Zeitschrift f. Pflanzenkrankheiten. Bd. V. 1895. Heft 1.)

Ein bedeutender Teil der Feinde unserer Kulturpflanzen lebte ursprünglich auf anderen wilden Pflanzenarten und griff unsere landwirtschaftlichen Produkte nur gelegentlich, nicht selten durch Not gedrängt, an.

So leidet z. B. die Luzerne (Medicago sativa) besonders im wärmeren Europa oft in verhängnisvoller Weise durch den Fraß der Larven von Subcoccinella 24-punctata. Merkwürdigerweise hat diese Coccinellidenart in Kis-Czent-Miklós (Komitat Pest) die Luzerne beinahe ganz aus dem Bereiche ihrer Angriffe gelassen, trotzdem sie dort zu den gemeinsten Käferarten, zu den sogenannten „herrschenden" Arten gehört. Nun ist es interessant, daß in gewissen Teilen des Jahres die Blätter der dort zahlreich wachsenden Gypsophila paniculata durch die Larven der erwähnten Subcoccinella total zernagt werden. Nach der Verpuppung der Larven kommen sogleich neue Triebe, welche den Verlust der Pflanze zu ersetzen suchen. Die Gypsophila wächst in unmittelbarer Nähe der Luzernefelder, und es scheint, als ob dieselbe den Insektenfraß von der Luzerne ableitet. So viel scheint gewiß zu

sein, daß hier die Subcoccinella 24-punctata eine freie Wahl zwischen beiden Pflanzenarten hatte und daß sie das rispige Gipskraut bevorzugte. Wo hingegen die Subcoccinella keine entsprechenden wildwachsenden Nährpflanzen findet, dort muß sie zwangsweise, aus Not, unsere Kulturpflanzen angehen. Ein weiterer Beweis für diese Thatsachen ist die mehrfache Beobachtung, daß die Larven dieser Käferart von den abgemähten Luzernefeldern auf Rübenpflanzen (Beta) hinüberwandern und diese zerfressen. Dieses geschieht ebenfalls aus Not, da sie, solange ihnen Luzerneblätter in gehöriger Menge zur Verfügung stehen, die Rübenfelder unbehelligt lassen.

Einen weiteren Beitrag zu diesen Erfahrungen liefert der nebelfleckige Schildkäfer (Cassida nebulosa). Derselbe bevorzugt die Blätter von Chenopodium, welches Unkraut auf allen besseren Bodenarten, so auch auf Rübenfeldern zu wuchern pflegt. Kommt nun die Zeit des Behackens, wodurch das Unkraut vertilgt wird, so wandern sämtliche jungen Larven auf die Rübenblätter hinüber und verursachen nicht selten bedeutenden Schaden.

Ein dritter Fall bot sich dem Verf. wiederholt seit 12 Jahren auf jenem weiten Flugsandgebiete, welches sich zwischen Vacz, Gödöllö und Budapest ausdehnt und seit Menschengedenken als Viehweide diente. Die spärlichen Gramineen dieser Wüste beherbergen in manchen Jahren eine ungeheuere Zahl von Myorrhinus albolineatus F., einer spezifisch ungarischen, grauen, weißgestreiften Rüsselkäferart.

Als nun jene Flugsandgebiete nach und nach gestürzt und in Roggenfelder umgewandelt wurden, wanderten die oben bezeichneten Käfer auf die Roggenähren hinüber, an welchen sie oft in ungeheueren Mengen gefunden wurden, besonders in trockenen Frühjahren, wo die wilden Gramineen der Weide verdorrten.

Es ist augenscheinlich, daß, je mehr Boden durch die Landwirtschaft der jungfräulichen Natur abgerungen wird, desto mehr verschiedene Insektenarten durch die Not gezwungen werden, die Nahrungspflanze zu wechseln und sich auf unsere Kulturpflanzen zu werfen.

Die Vorliebe gewisser schädlicher Insektenarten für bestimmte Pflanzen könnte dazu benutzt werden, durch den Anbau von „Fangpflanzen“ in der Nähe der Felder die Insekten anzulocken und dort leichter und bequemer zu vernichten. Hollborn (Rostock).

Schlechtendal, D. v., Beobachtungen über das Bräunen der Blätter unserer Laubhölzer durch freilebende Pyllocoptinen (Gallmilben). (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Band V. 1895. Heft 1.)

Viele unserer Laubgehölze leiden unter einer Krankheit, welche darauf beruht, daß die ganzen Blätter oder die Unterseite derselben zu einer Zeit braun werden, wo ein Verfärben des Laubes unter normalen Verhältnissen noch nicht aufzutreten pflegt.

Seit 12 Jahren sind dem Verf. diese Krankheitserscheinungen sowie deren Ursachen bekannt, aber erst seit dem Beginne dieses Jahrzehnts hat Professor Nalepa nachgewiesen, daß nicht eine

Gallmilbenart das Bräunen veranlaßt, sondern daß fast jeder Baum eine ihm eigentümliche Art als Krankheitserreger hat.

Die Krankheit hat sich in letzter Zeit um Halle bedeutend weiter verbreitet, und sind vom Verf. die wichtigsten der erkrankten Pflanzen untersucht und folgende Ergebnisse erhalten worden:

1) Aesculus Hippocastanum L. Bräunung der Blattunterseite durch Tegonotus carinatus Nal.

Neben den Gallmilben fanden sich häufig noch zahlreiche Ansiedelungen von Spinnmilben (Tetranychus), jedoch wird die Bräunung der Unterseite der Blätter durch die Gallmilben hervorgerufen, während das partielle Absterben der Blätter der Einwirkung der Spinnmilben zuzuschreiben ist, denn Blätter der Roßkastanie, an denen keine Gallmilben aufgefunden wurden, welche dagegen zahllose Spinnmilben enthielten, zeigten nur die Trockniserscheinungen, dagegen Blätter, wo neben jenen noch Phytopten lebten, zeigten auch Bräunung der Unterseite und, fehlten die Spinnmilben, nur diese. Besonders reich an Phytopten waren Bäume von

2) Aesculus rubicunda Lois., an denen kein Blatt milbenfrei war. Bereits Ende Juni zeigten sich an stark infizierten Bäumen Vorboten des Absterbens der Blätter, indem solche, entgegen den durch Spinnmilben hervorgerufenen Erscheinungen vom Rande her, gleich der Entfärbung im Herbste, zu vergilben begannen, und indem die von den Phytopten auf der Unterseite gebräunten Stellen oberseits ebenfalls eine gelbe Färbung annahmen. Innerhalb dieser gelben Färbungen traten dann später auch kleine dunkele Flecke infolge Absterbens der Blattsubstanz auf, welche aber von den durch Spinnmilben veranlaßten schon in der dunkleren Färbung abweichen.

3) Corylus Avellana L. Bräunung der Blätter durch Phyllocoptes comatus Nal. Besonders häufig in den Rheinlanden an Buschrändern, zusammen mit der Spinnmilbe auf den Blättern der Haselsträuche gefunden.

4) Fraxinus excelsior L. Bräunung der Unterseite der Blätter durch Phyllocoptes epiphyllus Nal.

Diese Krankheit ist sehr auffällig, da die von diesen Phytopten befallenen Bäume weithin durch die gelbliche Färbung ihres Laubes sich bemerkbar machen.

5) Pirus communis und Malus L. Bräunen und Bleichen der Blätter durch Phyllocoptes Schlechtendali Nal.

6) Prunus domestica und Prunus Cerasus L. Bräunung und Zusammenbiegen der Blätter durch Phyllocoptes Fockeni Nalepa et Trouessart. Bei starker Infektion treten an den Blättern der Zwetsche Verkrümmungen und flache Ausbauchungen zu der Bräunung als Cecidienbildung hinzu. Bei der Kirsche ist die Bräunung der Blätter hervortretender.

7) Rosa canina L. Bräunung der Blättchen durch Callyntrotus Schlechtendali Nal.

Auch hier zeigen die Blättchen eine bräunliche Färbung und fallen schon von ferne dadurch auf, daß sie sich der Länge nach zusammenkrümmen.

8) Tilia platyphyllos Scop. Bräunung der Blattunterseite durch Phyllocoptes Balléi Nalepa.

Bei der großen Häufigkeit der Spinnmilbe auf den Blättern der Linde ist die Gegenwart der Gallmilbe leicht zu übersehen, und dennoch findet sie sich in weiter Verbreitung, überall kenntlich in ihrem Auftreten durch das Bräunen der unteren Blattfläche, wodurch die von ihr in Vielzahl bewohnten Linden eine so eigentümlich bräunliche Färbung erhalten, wie ihnen dieselbe weder durch Tetranychus noch durch die natürliche Herbstfärbung verliehen wird.

Hollborn (Rostock).

Büsgen, M., Zur Biologie der Galle von Hormomyia Fagi Htg. (Sonderabdr. aus Forstl.-naturwiss. Zeitschr. 1895. Heft 1. p. 9—18.)

Verf. giebt nach einem kurzen Blicke auf den Schaden, den die Galle durch den beträchtlichen Stoffentzug zugleich mit ihrem oft massenhaften Auftreten für die Rotbuche herbeiführen kann, eine vollständige Darstellung ihrer Entwickelung. Aus überwinterten Gallen erzog er die sie verursachenden Mücken, die schon im März ausschlüpften und bald darauf rote Eier an die Zweige der Buchen, namentlich in der Nähe der Triebspitzen oder an beliebige andere Gegenstände ablegten. Anfang April schlüpften aus ihnen kleine rote Larven aus, die sich zwischen den noch nicht entfalteten Knospenschuppen der Buche hindurch zu den embryonalen Laubblättern durchzwängten, ein Vorgang, der direkt beobachtet wurde, und dort an der Blattunterseite sofort zu saugen begannen. Um die Saugstelle herum bildet sich sodann ein papillöser Gewebewulst, der das Tier umgiebt, aber zunächst nicht vollständig umschließt. Die Saugstelle selber aber stülpt sich infolge fortgesetzter Zellteilungen nach der Blattoberseite zu einem kurzen, breiten Kegel aus, der oben ein Spitzchen trägt und, ohne ein streng lokalisiertes Teilungsgewebe zu bilden, bis zur Größe der fertigen Galle heranwächst. Deren Wand läßt vier Gewebslagen unterscheiden: 1) Epidermis mit Wachs und Cuticula besetzt; 2) ein großzelliges Gewebe mit verholzten und getüpfelten Zellwänden, in welches sehr einfache Gefäßbündel eingelagert sind; 3) eine Schicht zarter, kleiner, getüpfelter Zellen und 4) eine ähnliche Zelllage mit dünnen, aber cuticularisierten und leiterförmig schwach verdickten Zellwänden, die Epidermis der Gallinnenseite.

Die Art der Nahrungsaufnahme seitens des Gallentieres hat Verf. nicht mit Sicherheit erkennen können. Er hält es für wahrscheinlich, daß die Larven die Zellen mit einem winzigen, an ihrem Munde beobachteten Chitinstilette anstechen und den infolge des Turgordruckes austretenden Tropfen aufsaugen.

Ueber die Natur des Reizes, der zur anormalen Zellvermehrung und Aenderung der Gestaltungsvorgänge in der angefallenen Blattstelle führt, ergaben sich keine Anhaltspunkte. Ein Exkret des Tieres wurde nicht beobachtet.

Aderhold (Proskau).

Künckel d'Herculais, J., Observations biologiques faites sur le Criquet pèlerin (Schistocerca peregrina Olivier) pendant les invasions de 1891, 1892 et 1893 en Algérie. — Pariade et accouplements répétés. — Pluralité des pontes. (Compt. rend. CXIX. 1894. p. 863.)

Zu Füßen Mohamed's fiel einst eine Heuschrecke, auf deren Flügel die Worte standen: „Wir sind die Legionen Gottes; wir tragen 99 Eier; wenn wir 100 hätten, würden wir die ganze Welt verzehren.“ Der Glaube an die Richtigkeit dieser geheiligten Worte und damit in Verbindung die Meinung, daß die Heuschrecken unmittelbar nach der Eierablage sterben, ist bis heutigen Tages allgemein verbreitet und selbst die Wissenschaft hat sich bisher davon beeinflussen lassen.

Verf. fand jedoch, daß Weibchen von Heuschrecken, die er in Gefangenschaft hielt, in Intervallen von 15, 18 und 20 Tagen 4mal nach einander Eier ablegten, wobei auf ein Weibchen insgesamt 200—400 Eier kamen.

Um den vollständigen Kreislauf in der Entwickelung der Heuschrecken kennen zu lernen, wurden Tiere vom Ei an gezogen, und es ergab sich, daß die Weibchen in der Zeit von $7^1/_2$—11 Monaten 8—11mal Eier legten. Mit diesen Beobachtungen, welche über die Lebensdauer einer Generation Aufschluß geben, steht im Einklange, daß Flüge, die von Individuen stammten, welche sich in Algier während des Frühlings und Sommers 1891 entwickelt hatten, den Norden Afrikas verließen, um jenseits der Sahara zu überwintern. Von dort aus gelangten sie in den ersten Monaten des Jahres 1892 nach dem äußersten Süden, den Hochplateaus und selbst nach Tell, wobei sie sich begatteten und in allen Territorien, die sie durchkreuzten, Eier ablegten. Als sie schließlich an die Küste kamen, enthielten diese Flüge oft nur mehr durch tierische oder pflanzliche Parasiten geschwächte Individuen, die nochmals Eier legten und dann zu Grunde gingen. Hieraus erklärt sich der Glaube an den Tod der Heuschrecken nach dem Ablegen der Eier. Normalerweise kann ein Weibchen insgesamt 500—900 Eier legen. Aus diesem Befunde leitet sich die praktische Lehre ab, daß es von größter Wichtigkeit ist, die ersten Flüge von ihrem Erscheinen an zu vernichten.

L. Hiltner (Tharand).

Schutzimpfung, künstliche Infektionskrankheiten, Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Klebahn, H., Einige Versuche betreffend den Einfluß der Behandlung des Saatgutes gegen Brandpilze auf die Keimfähigkeit und den Ertrag des Getreides. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. III. p. 65—69.)

Körner von Roggen, Weizen, Gerste und Hafer wurden vergleichsweise nach den verschiedenen dafür angegebenen Verfahren behandelt (Beizen mit Kupfervitriol, Warmwasserbehandlung) und Entwickelung nebst Ernteerträgen der in Kästen wie im Freien angestellten Aussaaten mit einander verglichen. Daneben liefen Parallelversuche mit unbehandelten Körnern.

Auf das benutzte Aussaatmaterial vom Roggen (dessen Qualität jedoch mangelhaft zu sein schien) hatte sowohl die Kupfer- wie die Heißwasserbehandlung, letztere insbesondere, eine merklich nachteilige Wirkung, sie äußerte sich bei den Versuchen in Kästen wie bei denen im Freien und geht aus den mitgeteilten Zahlen zur Genüge hervor. Günstiger stellten sich die Versuche mit Gerste; die Keimkraft der Körner war kaum geschwächt, doch bewährte sich auch hier — trotzdem das Ernteergebnis der Kastenversuche die Heißwasserbehandlung empfehlenswert erscheinen läßt — bei den Feldversuchen keine der beiden Methoden besonders. Hierbei wirkte aber vielleicht Störendes mit. Der behandelte Weizen zeigte eine merkbare Verzögerung der Keimung nebst einer geringen Schwächung der Keimkraft; der Ernteausfall läßt die Kupferbehandlung empfehlenswerter erscheinen. Für Hafer erscheint diese jedoch entschieden zu verwerfen; wenn sie auch die Keimfähigkeit der Körner unerheblich verminderte, so schwächte sie doch die jungen Pflanzen in auffälligem Grade. Dagegen erwies sich hier die Heißwasserbehandlung als sehr angebracht, indem sie selbst günstig auf Keimkraft und Ernteertrag wirkte.

Soweit die Versuche nach Verf. ein Urteil gestatten, kann zur Bekämpfung der Brandpilze beim Roggen keins der angewandten Mittel empfohlen werden; bezüglich des Weizens liegt kein Grund vor, die vielfach bewährte Kupferbehandlung zu gunsten der Heißwassermethode aufzugeben, während hinsichtlich der Gerste die Ergebnisse unbestimmt sind. Für den Hafer ist die Kupferbeize zu verwerfen, dagegen die Heißwasserbehandlung zu empfehlen.

Wehmer (Hannover).

Corrigendum.

In dem Referat über „Went und Prinsen-Geerligs, Beobachtungen über Hefearten und zuckerbildende Pilze" etc. muß es bei der Ragi-Bereitung (No. 13/14. p. 502. Zeile 11 dies. Centralbl.) natürlich heißen: „der zu Kugeln geknetete" statt „zu Kugeln gekochte Brei".

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

Dr. Wilhelm Windisch.

Allgemeines über Bakterien und andere Mikroorganismen.

Burri, R., Herfeldt, E. u. Stutzer, A., Bakteriologisch-chemische Forschungen über die Ursachen der Stickstoffverluste in faulenden organischen Stoffen, insbesondere im Stallmist und in der Jauche. (Journ. f. Landwirtsch. Bd. XLIII. 1895. Heft 1 u. 2. p. 1.)

Puchner, H., Wirtschaftlich verwertbare niedere Pflanzenformen. (Bayer. Brauer-Journ. Jahrg. V. 1895. No. 26. p. 302.)

Systematik, Morphologie und Biologie der Bakterien und anderer Mikroorganismen.

Braatz, Egbert, Einiges über die Anaërobiose. (Centralbl. f. Bakteriol. u. Parasitenk I. Abt. Bd. XVII. 1895. No. 21. p. 737—742. Mit 1 Fig.)

Dangeard, P. A., Observations sur le groupe des bactéries vertes. (Annal. de microgr. 1895. No. 2. p. 67—69.)

Etienne, G., Action de quelques microbes sur la substance glycogène. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1894. p. 750—752.)

Lépine, R. et Martz, F., Sur le ferment glycolytique, produit artificiellement aux dépens de la diastase du malt ou du pancréas. (Arch. de méd. expérim. et d'anat. pathol. 1895. No. 2. p. 219—227.)

Lungwitz, M., Taenia ovilla Rivolta, ihr anatomischer Bau und die Entwickelung ihrer Geschlechtsorgane. (Arch. f. wissensch. u. prakt. Tierheilk. 1895. Heft 2/3. p. 105—159.)

Marpmann, G., Bakteriochemische Probleme. (Dtsch.-Amerik. Apotheker-Ztg. 1895. No. 11, 12. p. 142—143, 155—156.)

Thumm, K., Beiträge zur Biologie der fluorescierenden Bakterien. (Aus: Arbeiten d. bakteriol. Instit. d. großhrzgl. Hochschule zu Karlsruhe. gr. 8°. 89 p. Karlsruhe (O. Nemnich) 1895.

Will, H., Vergleichende Untersuchungen an vier untergärigen Arten von Bierhefe. (Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen. Jahrg. XVIII. 1895. No. 27. p. 217.)

Allgemeine Gärungsphysiologie.

Brown, Adrian J., Note on Bacillus subtilis. (Journ. of the Federated Institutes of Brewing. Vol. I. 1895. p. 423—426.)

Fischer, Emil, Ueber den Einfluß der Konfiguration auf die Wirkung der Enzyme. III. (Berichte d. deutsch. chem. Gesellsch. Jahrg. XXVIII. 1895. No. 11. p. 1429.)

Lafar, Franz, Studien über den Einfluß organischer Säuren auf Eintritt und Verlauf der Alkoholgärung. (Landw. Jahrbücher. 1895. p 445—447.)

Van Laer et Denamur, Notice sur une levure à atténuation — limite très-élevée. (Moniteur scientifique du docteur Quesneville. Année XXXIX. T. XLV. Série 4. Livr. 643. Juillet 1895. p. 499.)

Will, H., Bericht über die Fortschritte in der Kenntnis der Gärungsorganismen. (Forschungsber. üb. Lebensmittel etc. 1895. Heft 4. p. 98—106.)

Brennerei.

Hartmann, R., Milchsäure- oder Flußsäurehefe. (Alkohol. Jahrg. V. 1895. No. 26. p. 403.)

Hell, O., Schaumgärung bei Heferasse II. (Alkohol. Jahrg. V. 1895. No. 25. p. 385.)

Volkmar, Milchsäure und Flußsäurehefe. (Alkohol. Jahrg. V. 1895. No. 25. p. 386.)

Preſshefefabrikation.

Braun, Th., Ueber Hefensortierung. (Alkohol. Jahrg. V. 1895. No. 26. p. 404.)

Hufs, Ueber Hefeprüfung. (Alkohol. Jahrg. V. 1895. No. 26. p. 403.)

Will, H., Zur Beurteilung von Preßhefe. (Forschungsber. Lebensmittel, Hygiene, forens. Chemie, Pharmokogn. Jahrg. II. 1895. p. 143.)

Zuckerfabrikation.

Rullmann, W., Chemisch-bakteriologische Untersuchungen von Zwischendeckenfüllungen mit besonderer Rücksicht von Cladothrix odorifera. München (J. F. Lehmann) 1895. 1 M.

Nahrungs- und Genußmittel, Konserven etc.

Basenau, F., Ueber das Verhalten der Cholerabacillen in roher Milch. (Arch. f. Hygiene. Bd. XXIII. 1895. Heft 2. p. 170—183.)

Carter, A. H., Sterilisation of milk. (Lancet. Vol. I. 1895. No. 16. p. 984—986.)

Chicote, César, Alimentos y Bebidas, Investigaciones de sus alteraciones y falsificaciones. Madrid (Establecimiento tipografico de Ricardo Fé) 1894.

Eber, W., Instruktion zur Untersuchung animalischer Nahrungsmittel auf Fäulnis. 8°. Berlin (Richard Schoetz) 1895. 1 M.

Elsner, F., Die Praxis des Chemikers bei Untersuchung von Nahrungs- und Genußmitteln, Gebrauchsgegenständen und Handelsprodukten, bei hygienischen und bakteriologischen Untersuchungen, sowie in der gerichtlichen und Harn-Analyse. 6. Aufl. 10. (Schluß-)Lfg. 8°. Hamburg (Leopold Voß) 1895. 1,25 M.

Preußen. Provinz Schlesien. Polizei-Verordnung, betr. die Untersuchung von Schweinefleisch ausländischen Ursprungs. Vom 8. Sept. 1894. (Veröffentl. d. kaiserl. Gesundh.-A. 1895. No. 10. p. 166.)

— —, Reg.-Bez. Lüneburg. Polizei-Verordnung, betr. die Untersuchung des Schweinefleisches auf Trichinen. Vom 13. Sept. 1894. (Veröffentl. d. kaiserl. Gesundh.-A. 1895. No. 15. p. 258—261.)

Wilm, Ueber die Einwanderung von Choleravibrionen ins Hühnerei. (Arch. f. Hygiene. Bd. XXIII. 1895. Heft 2. p. 145—169.)

Wasser.

Krieger, Die Beurteilung von Trinkwasser nach dem Ergebnis der chemischen und bakteriologischen Untersuchung. (Arch. f. öffentl. Gesundheitspfl. in Elsaß-Lothringen. Bd. XVI. 1895. Heft 2. p. 132—137.)

Boden.

Wilm, Untersuchungen über die Leistungsfähigkeit von Baumstämmen als Bakterienfilter. (Hygien. Rundschau. 1895. No. 10. p. 448—450.)

Durch Parasiten verursachte Krankheiten der Pflanzen.

Aderhold, R., Notizen über einige im vorigen Sommer beobachtete Pflanzenkrankheiten. 1) Glasige Aepfel. 2) Helminthosporium gramineum. 3) Phoma Betae. 4) Milchglanz des Steinobstes. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. V. 1895. Heft 1 u. 2.)

Apple canker. (Gardeners Chronicle. Jahrg. XVII. 1895. ser. 3. p. 242.)

Arcangeli, G., Sopra alcuni casi teratologici osservati di recente. (Bullet. della Società botanica italiana, Firenze 1894. p. 305—308.)

Bailey, L. H., The recent apple failures of western New York. (Cornell Univ. Agric. Experim. Stat. Bul. 84. 1895.)

Bandisch, F., Ueber Nectria ditissima. (Centralbl. d. Ges. Forstw. Wien. Jahrg. XXI. 1895. No. 2. p. 51—55.)

Barber, C. A., The diseases of canes. Suppl. Leeward Islands Gaz. 1894. p. 114—122. pl. 1.)

— —, Remedies for cane diseases. (Loc. cit. p. 127—131.)

Clinton, G. P., The relationship of Caeoma nitens and Puccinia peckiana. (Bot. Gaz. Jahrg. XX. 1895. No. 3. p. 116.)

Ekstam, Otto, Teratologische Beiträge. (Öfversigt af kongl. Vetenskaps-Akademiens Förhandlingar. Stockholm 1894. No. 2.)

Ellis, J. B. and **Everhart, B. M.**, New species of Ustilagineae and Uredineae. (Torrey Bull. Jahrg. XXII. 1895. No. 2. p. 57—61.)

Gillot, X., Notes tératologiques. (Bull. de la société botanique de France. Tome XLI. 1894. p. 446—451.)

Grevillius, A. Y., Ett abnormt fall af skottbildnung hos Antennaria dioica. (Botaniska Notiser. 1895. Häft 3.)

Halsted, B. D., Some fungus diseases of beets. (New Jersey Stas. Bul. Vol. CVII. 1895. p. 1—113. With 5 figs.)

Halsted, B. D., How to distinguish fungus diseases of carnations. (Florist's Exchange, Jahrg. VII. 1895. No. 14. p. 293—294.)
— —, The cherry fruit mold. (Garden and Forest. Vol. VIII. 1895: p. 137.)
— —, Strawberry leaf curl. (Loc. cit. p. 148.)
Hayne, A. P., A new disease of the olive tree. (Californian Sta. Rpt. 1893 u. 1894. p. 297—298.)
Hexenbesen. (Oesterr. forstl. Ztg. Jahrg. XIII. 1895. No. 2. p. 13.)
Lärchenkrebs, der. (Loc. cit. p. 11—12.)
Lavergne, Gaston, Rapport sur le black-rot dans le département de l'Aveyron en 1894. (Extr. du Bull. du ministère d'agriculture. 1895.) 8⁰. 6 p. Paris (Imp. Nationale) 1895.
Lavergne, G. et **Marre, E.**, Le Black rot et son traitement pratique. Bordeaux (Féré) 1895.
Le Polyporus des olives. (Prog. Agr. et Vit. Jahrg. XII. 1895. No. 13. p. 348.)
Lodeman, E. G., Black knot of plums and cherries and methods of treatment. (New York Cornell Sta. Bul. Vol. LXXXI. 1895. p. 635. With 6 figs.)
— —, The Spraying of orchards, apples, Guinces, plums. The heath broom, the first spraying devise for Bordeaux mixture. (Cornell Univers. Agricult. Experim. Stat. Bull. 86. 1895.)
Marchal, Paul, Les Coccinellides nuisibles. (Extr. de la Revue des sciences naturelles appliquées. 1895. No. 6.) 8⁰. 8 p. Paris (Cerf & Co.) 1895.
Massee, G., An orchard disease. (Ann. Bot. Jahrg. IX. 1895. No. 33. p. 170.)
Nelson, Aven, Squirill-tail grass (fox tail). One of the stock pests of Wyoming. (University of Wyoming Agricultural College Department. Wyoming Experim. Stat. Bull. No. 19. 1894. p. 73—79. With fig. and 4 pl.)
— —, The grain smuts and potato scab. (Loc. cit. Bull. No. 21. 1895. p. 5—24. With 1 pl.)
Pammel, L. H., Diseases of lettuce and radishes. (Americ. Gard. Vol. XVI. 1895. No. 36. p. 150.)
Percival, J., A disease of hops probably due to a nematode. (Abs. in Nat. Sci. Jahrg. V. 1894. No. 31. p. 170.)
Sajò, Karl, Phytopathologisches aus Ungarn. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. V. 1895. p. 92—95.)
— —, Valgus hemipterus L. im lebenden Akazienbaum. (Loc. cit. p. 90—92.)
Selby, A. D., Progress in the study of the fungus of wheat scab. (Ann. Rpt. Ohio Acad. Sci. Jahrg. II. 1894. p. 33.)
— —, Notes on Erysipheae. (Loc. cit. p. 36.)
Simoni, L. e **Mattei, Giov. Ett.**, Degli uccelli ed insetti utili e dannosi all' agricoltura; memoria letta alla società agrariadi Bologna nell' adunanza delli 20 maggio 1894. 8⁰. 47 p. Bologna (tip. di G. Cenerelli) 1894.
Slingerland, M. V., The Cigar-Case-Bearer in Western New York. (Cornell Univers. Agricult. Experim. Bull. 93. 1895.)
Stinson, J. T., Spraying of apple trees. (Arkansas Sta. Rpt. 1894. p. 23—44. With 1 fig.)
Taft, L. R., The prevention of potato scab. (Mich. Press Bull. 1895. Jan. p. 4. With 3 figs.)
Thibaut, S., Description et moeurs des insects et animaux nuisible aux arbres fruitiers et aux fruits et moyens à employer pour les combattre ou les détruire. In-32⁰. 48 p. avec 23 fig. dans le texte. Liége (Dessain) 1894.
Waugh, F. A., Anthracnose of water-melon. (Americ. Hort. Vol. V. 1895. No. 4. p. 61. With 1 fig.)
Wény, Wahrscheinliche Ursache des frühen Absterbens der Grünveredelungen. (Die Weinlaube. Jahrg. XXVII. 1895. No. 25. p. 291.)
Wheeler, H. J., **Towar, J. D.** and **Tucker, G. M.**, Further observations upon the effect of soil conditions upon the development of the potato scab. (Rhode Island Sta. Bull. Vol. XXX. 1895. p. 66. With 22 figs.)
Woodworth, C. W., A laboratory of plant diseases. (California Sta. Rpt. 1893. u. 1894. p. 435.)
— —, Root knots of fruit trees and rines. (Loc. cit. p. 436—440. With 1 pl.)

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Edwards, A. M., Coloured light in the microscopy. (American microscopical Journ. Bd. XVI. 1895. p. 183.)

Frothingham, L., Laboratory guide for the bacteriologist. London (Hirschfeld) 1895. 4 sh.
Knauss, K., Eine einfache Vorrichtung zum Abfüllen von je 10 ccm Nährsubstanz. (Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. Abt. I. Bd. XVII. 1895. No. 24/25. p. 878.)
Timpe, H., Zur Frage der Gelatinebereitung. (Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. Abt. I. Bd. XVII. 1895. No. 24/25. p. 879.)

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien.

Beach, S. H., Bordeaux mixture and colour tests. (Garden and Forest. Bd. VIII. 1895. p. 118.)
Goff, E. S., A kerosen attachment for spraying pumps. (Garden and Forest. Bd. VIII. 1895. p. 143. With 2 figs.)
How and when to spray. (Americ. Gard. Bd. XVI. 1895. p. 146.)
Lodeman, E. G., The preparation of Bordeaux mixture. (Garden and Forest. Bd. VIII. 1895. p. 159.)
Weifs, J., Das bakteriologische Verhalten der Lysole. (Pharm. Ztg. Bd. XL. 1895. p. 406.)

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

1895. **Centralblatt** Bd. I. No. 15/16.
für Bakteriologie und Parasitenkunde.
II. Abteilung.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie und Parasitenkunde.

Zweite Abteilung:

Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie und Pflanzenpathologie.

In Verbindung mit

Prof. Dr. Adametz in Krakau, Dr. W. M. Beyerinck in Delft, Prof. Dr. A. B. Frank in Berlin, Dr. v. Freudenreich in Bern, Prof. Dr. Emil Chr. Hansen in Kopenhagen, Dr. Lindner in Berlin, Prof. Dr. Müller-Thurgau in Wädensweil, Dr. Erwin F. Smith in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. Stutzer in Bonn, Privatdocent Dr. Wehmer in Hannover, Dr. Weigmann in Kiel, Dr. Wilfarth in Bernburg und Dr. Winogradsky in St. Petersburg.

herausgegeben von

Dr. O. Uhlworm in Cassel.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

I. Band. Jena, den 10. September 1895. No. 17.

Preis für den Band (26 Nummern) 16 Mark.

Original - Mittheilungen.

Zur Charakterisierung der Duclaux'schen Tyrothrixarten, sowie über die Variabilität derselben und den Zusammenhang der peptonisierenden und Milchsäurebakterien.

[Arbeiten aus dem tierphysiologischen Institute der k. k. Hochschule für Bodenkultur in Wien.]

Von

Dr. Willibald Winkler,

Privatdozenten und Assistenten.

Mit 2 Tafeln.

Bekanntlich hat Duclaux aus dem Cantalkäse 10 verschiedene Bakterienarten herauskultiviert, denen er die Reifung dieses Käses zuschrieb. Diese von Duclaux[1]) wegen ihrer Fadenbildung in

1) Le lait; Paris 1887, 2. Aufl. 1894.

Milch mit dem bezeichnenden Namen Tyrothrix belegten Bakterien haben eine gewisse Berühmtheit erlangt, weil sie die ersten genauer studierten Bakterien der Käsereifung waren. Man war vielfach der Ansicht, daß diese Tyrothrixarten auch an der Reifung anderer Käse Anteil nehmen; aber Adametz und v. Freudenreich kamen bei ihren Untersuchungen über die Reifung der Käse, insbesondere des Emmenthalerkäses, zu einem verneinenden Resultate. Beide Forscher fanden im reifenden und gereiften Käse Gelatine verflüssigende (peptonisierende) Bakterien in nur sehr geringer Menge und Artenzahl vertreten; die bei weitem überwiegende Zahl von Käsebakterien stellten sich als Milchsäurebakterien heraus. v. Freudenreich kommt auf Grund dieses Resultates zu dem befremdlichen Schlusse, daß die verflüssigenden Bakterien (Tyrothrix-, Kartoffel- oder Heubacillen) bei der Käsereifung eine sehr untergeordnete Rolle spielen [1]). Nach dem, was wir bisher von der Wirkung der Milchsäurebakterien auf das Kaseïn wissen, scheint es aber nicht leicht erklärlich, daß diese Bakterien bei der Reifung der Käse „die Haupt-, wenn nicht die alleinige Rolle, wenigstens beim Emmenthalerkäse" spielen sollen. Die Resultate der vorliegenden Arbeit sind vielleicht dazu geeignet, die Widersprüche in dieser Frage teilweise zu lösen. Zunächst wurde mit derselben der Zweck verfolgt, die 7 wichtigsten Tyrothrixarten, die Duclaux mittels der Verdünnungsmethode in flüssigen Nährböden isoliert und nach dem Wachstume in Milch, sowie nach den chemischen Umsetzungen, welche sie in derselben hervorbringen, charakterisiert hat, auch nach ihrem Verhalten auf Gelatineplatten und den gebräuchlichsten Nährböden zu beschreiben, um die Erkennung derselben auch bei dem Koch'schen Verfahren möglich zu machen. Es scheint nämlich sehr wahrscheinlich, daß die Tyrothrixarten, wenigstens einige derselben, wie Duclaux vermutet, weit verbreitet sind; in der That fand auch v. Freudenreich Tyrothrix tenuis mehrmals im Emmenthalerkäse, und wie sich im Verlaufe dieser Arbeit herausstellen wird, ist auch von den von Adametz aus Emmenthalerkäse beschriebenen Bakterien mindestens eines den Tyrothrixarten zuzuzählen.

Das Untersuchungsmaterial bestand in Bouillonculturen, die, in zugeschmolzenen Glasröhrchen eingeschlossen, direkt aus dem Laboratorium Duclaux' stammten. Dieselben verdanke ich meinem Freunde, Prof. Dr. L. Adametz, unter dessen Anleitung ich schon vor 4 Jahren die Tyrothrixarten zu untersuchen begann. Ich habe späterhin dieselben auch auf ihre Wirksamkeit in einer größeren Anzahl von Versuchskäsen studiert, seither aber über anderen Arbeiten beiseite gelassen und nun die Ergebnisse meiner früheren Untersuchungen neuerdings überprüft und vervollständigt.

Die als Nährboden verwendete Gelatine war die Koch-Loeffler-sche Fleischwasser-Pepton-Gelatine, sowie dieselbe mit Zusatz von 1 Proz. Milchzucker oder 1 Proz. Glycerin; ferner wurden sterilisierte Milch, Agar-Agar und gewöhnliche saure oder mit Soda alkalisch gemachte Kartoffeln verwendet. Da für die erste Erkennung der Bak-

1) Heft 9/10 der 2. Abteilung dieses Centralblattes.

terienart die Kolonieen auf der Platte, in diesem Falle Petri'sche Schalen, von Wichtigkeit sind, wurden diese sehr sorgfältig beobachtet und, meist durch die Platte, abgezeichnet.

Alle Tyrothrixarten sind größere Bacillen, die in Milch und auch auf anderen Nährböden längere zusammenhängende Fäden bilden; die einzelnen Stäbchen erreichen besonders in Milch oft eine ansehnliche Länge, 100—120 μ. Sie bilden leicht Sporen, die dann eine Hitze von 100—150° kurze Zeit überstehen. Das Kaseïn der Milch wird von ihnen mehr oder weniger peptonisiert, Fleischwasser-Pepton-Gelatine, wenn auch zu Zeiten spät, verflüssigt. Auf Kartoffeln gedeihen sie ziemlich gut.

In der folgenden Beschreibung bringe ich bei jeder Art zunächst kurz die von Duclaux gegebene Charakterisierung und schließe daran die eigenen Beobachtungen.

Tyrothrix tenuis Ducl.

Nach Duclaux sind die Stäbchen dieser in Bezug auf Lösung des Kaseïns wirksamsten Tyrothrixart etwa 0,6 μ dick und von verschiedener Länge über 3 μ, zu Zeiten, besonders in Liebig's Bouillon, findet man Stäbchen von mehr als 100 μ Länge. Sie bilden oft lange Ketten. Die freien jungen Stäbchen sind lebhaft beweglich. In Bouillon bilden sie schon in einigen Stunden sichtbare Flocken. In der Milch gedeiht dieses Bakterium besonders an der Oberfläche und bildet hier ein gefaltetes Häutchen, in dem bald Sporen entstehen. Die Milch wird zuerst durch einen von den Bakterien abgeschiedenen labartigen Stoff koaguliert, dann aber wieder aufgelöst, durch ein Ferment, das Duclaux durch Alkohol ausfällen konnte und welches er „Casease" nennt. Das gelöste Kaseïn, von Duclaux „Caseone" genannt, wird im Laufe der Zeit durch Oxydation wieder gelatinös, durch den Lebensprozeß der Bakterien aber wird dasselbe in Leucin, Tyrosin, Ammoniaksalze, Fettsäuren etc. umgewandelt; für T. tenuis ist besonders valeriansaures Ammonium charakteristisch. T. tenuis ist streng aërob. Es verändert Milchzucker nicht, wandelt Calciumlaktat in Karbonat um und verbrennt Glycerin vollkommen. Die Sporen bewahren die Keimfähigkeit außerordentlich lange. Duclaux fand in Pfefferwasser die Sporen noch nach 25 Jahren keimfähig und ich fand dieselben in ganz ausgetrockneten Gelatinekulturen in 3 Jahren noch nicht abgestorben. Dies gilt, wie es scheint, für alle Tyrothrixarten.

Eigene Beobachtungen. Da ich schon bei der ersten Anlage von Platten aus den Originalkulturen von Duclaux an den Kolonieen bedeutende Verschiedenheiten bemerkte und sich namentlich eine stark gärende und eine stark peptonisierende Varietät ergab, habe ich bei einer neuerlichen Aussaat auf die Abänderungen dieser Art ein besonderes Augenmerk gerichtet. Es hat sich dabei herausgestellt, daß die vorhin erwähnten extremen Formen durch Zwischenformen verbunden sind und sich eine Reihe ergiebt, an der sich der allmähliche Uebergang von der peptonisierenden zur Milchsäure und Gas produzierenden Form verfolgen läßt. Da diese Umwandlung von peptonisierenden oder Labbakterien in Milchsäurebakterien, wie oben

angedeutet wurde, sogar von praktischem Interesse ist, lasse ich die Beschreibung der einzelnen Varietäten hier folgen. Ich habe dieselben so geordnet, daß ich die nur Lab und Kasease produzierende Form an die Spitze und an das Ende der Reihe die Milchsäure produzierende, stark gärende Form stellte.

Varietäten von Tyrothrix tenuis.

No. 1. Verflüssigende (peptonisierende) Form, nicht gasentwickelnd.

Plattenkulturen aus den Originalkulturen von Duclaux. Kolonien auf Fleischwasser-Pepton-Gelatine kreisrund, zartkonturiert, blaßweiß, beinahe wasserhell, rasch wachsend und verflüssigend (Taf. I Fig. 1). Erst später gegen den Rand mit einzelnen weißen Flocken durchsetzt. Auf Milchzucker-Gelatine Kolonieen von gleicher Form, nur mehr weißgetrübt und mit deutlicheren Konturen versehen.

Plattenkulturen von einer älteren Kultur dieser Form in Milchzucker-Gelatine zeigen ausschließlich dieselben Kolonien, jedoch anfangs mit weißer Mitte. Dasselbe ist der Fall nach längerer Kultur in Milch. Die Kolonieen sind in letzterem Falle sehr blaß und zart und zeigen ausnahmsweise Lappen am Rande. Es erweist sich also diese Varietät in der Form von Kolonieen ziemlich konstant. Es traten jedoch auf 1 Platte auch 2 Kolonieen von der Varietät No. 6 auf. Stäbchen von der Milchzucker-Gelatine-Platte 4—8 μ lang, wenig beweglich, von Fleischwasser-Pepton-Gelatine-Platte kürzer und dicker, wenig beweglich.

Stichkulturen (Tafel I, Fig. 14). Sowohl in gewöhnlicher als in Milchzucker-Gelatine geht das Wachstum längs des ganzen Impfstiches vor sich, bald (am 3. oder 4. Tage) tritt trichterförmige Verflüssigung ein. Die Flüssigkeit ist durch Bakterienmassen gleichmäßig getrübt, in Milchzucker-Gelatine bedeutend mehr als in gewöhnlicher Gelatine. Durch Milchzucker erscheint das Wachstum gefördert. Nach 50—60 Tagen nimmt die verflüssigte Gelatine eine dunkle, grünlich-braune Färbung an, in Milchzucker-Gelatine wiederum stärker. Unter den Abimpfungen von verschiedenen Kolonien dieser Varietät zeigte eine die Dunkelfärbung der Gelatine besonders stark und später ausgesprochene Fluorescenz. Diese fluorescierende Abänderung charakterisiert sich noch dadurch, daß dieselbe auf Kartoffeln einen lichtkarminroten Farbstoff produziert.

Agar-Strichkultur. Schneeweißes, netzartig gefaltetes Häutchen mit stumpflappigem Rande. — Die fluorescierende Varietät erzeugt wachsartigen weißen Belag, nicht gefaltet, später feuchtglänzend gelb mit gekörnter Oberfläche, schwächer wachsend als die nicht fluorescierende Form.

Auf Kartoffel (sauer) sehr üppig und rasch wachsend, erzeugt einen matten, hellgelblich-grauen, grobgefalteten Hautüberzug. Im Kondenswasser keine Gärung. Die fluorescierende Abänderung zeigt größere blaßkarminrote Stellen; eine Abimpfung von 3 Jahre alter eingetrockneter Gelatinekultur erzeugt auf der Kartoffel einen vollständig blaßkarminroten Ueberzug, der an den feuchten Stellen und

im Kondenswasser besonders intensiv gefärbt ist, nach und nach aber bräunlich-grau wird. Ebenfalls keine Gärungserscheinungen.

Milchkulturen. Bei Zimmertemperatur (15—20° C) beginnt nach etwa 5—6 Tagen sich die Milch, ohne vorher zu gerinnen (höchstens ganz feinflockig, ohne den flüssigen Zustand zu verlieren), unter der Rahmschicht in eine gelbbraune trübe Flüssigkeit zu verwandeln. Die Bräunung und Auflösung dringt ziemlich rasch von oben nach unten vor, sodaß nach 8—10 Tagen eine 10 cm hohe Milchschicht braungelb und dünnflüssig geworden ist. Dieselbe wird dann, von oben aus beginnend, transparent und erhält eine dunkelbernsteingelbe Farbe. Während dieser Umwandlung ist keine Gasentwickelung zu bemerken und die Rahmschicht wird nicht angegriffen. Nach etwa 30 Tagen trübt sich die klare Flüssigkeit und es scheidet sich von der Oberfläche aus ein weißlicher, feinflockiger Niederschlag ab und setzt sich zu Boden und nach einiger Zeit erreicht der lockere Absatz die halbe Höhe der Flüssigkeitsschicht. Duclaux führt diese Erscheinung, wie oben bemerkt, auf eine Oxydation zurück. — Bei Brüttemperatur macht sich eine schwache Lababscheidung bemerkbar, welche die Milch zwar nicht zum vollständigen Gerinnen bringt, aber doch dickflüssiger macht und die Peptonisierung etwas aufzuhalten scheint. Bei manchen Kulturen tritt jedoch stärkere Fällung und geringe Gärung auf. Aeltere Milchkulturen zeigen, besonders bei länger fortgesetzter Milchkultur, säuerlich scharfen Geruch nach altem Käse und stark bitteren Geschmack. — Dieselben enthielten bei einer dahingehenden Untersuchung reichlich Peptone, wenig Kaseïn und keine Hemialbumosen. — Die Reaktion ist amphoter oder alkalisch.

Die fluorescierende Abänderung zeigt dieselben Erscheinungen, nur bedeutend abgeschwächt und verlangsamt. Nach längerer Kultur auf Kartoffel und wiederholter Abimpfung erscheint das Peptonisierungsvermögen abgeschwächt, durch Kultur auf Milchzucker-Gelatine wird dasselbe erheblich gestärkt.

No. 2, mäßig verflüssigend, nicht gasentwickelnd.

Als solche wurden bei der ersten Aussaat verflüssigende runde Kolonieen unterschieden, welche durch einen breiten wollflockenartigen Mittelfleck und einen breiten wolkigen Saum charakterisiert sind (Taf. I, Fig. 2). Nach längerer Kultur in gewöhnlicher und Milchzucker-Gelatine ergiebt sich in Fleischwasser-Gelatine eine Abänderung, welche die Gelatine in älteren Kulturen braun färbt.

Beide Varietäten wurden nun getrennt kultiviert und in Schalen ausgesät. Auf diesen zeigt ein gut Teil der Kolonieen ganz ähnliche Kennzeichen wie bei der ersten Aussaat, flaumig sich auflösenden Mittelfleck und fransigen, flaumigen oder wolkigen Randsaum. In mittlerer Entwickelung sind dieselben weißlich-trüb, mit feinen Flocken erfüllt und besitzen einen breiten Fransensaum, der später zusammenfließt.

Beide Varietäten ändern jedoch in verschiedener Richtung ab. Die lichte Varietät zeigt vereinzelt Kolonieen, die denen von No. 1 gleichen, jedoch einen verwaschenen Rand besitzen. Unter den Kolonieen der dunklen Varietät lassen sich 2 Typen unterscheiden: a) solche mit

langen und breiten radialen Lappen (Taf. I, Fig. 4), b) runde trübe Kolonieen mit feinstrahligem Rande (Taf. I, Fig. 3). Zwischen den Stäbchen beider Formen besteht ein auffallender Unterschied; die der ersten Form zeigen auf gewöhnlicher Gelatine meist eine Länge von 6 μ, die der zweiten von 4 μ, oft ist aber der Unterschied noch bedeutender und die der ersten Form werden 3—4 mal so lang, als die der zweiten. Da die der ersten üppiger sind, als die Stäbchen in Milchzucker-Gelatine und von anderen Varietäten, so kann diese Form wohl als eine besondere Anpassungsform an Fleischwasser-Pepton-Gelatine angesehen werden. Um beide Formen weiter zu vergleichen, wurden von gleichalten Kolonieen der Pepton-Gelatineplatte Stichkulturen in gewöhnlicher Gelatine angelegt und auch da zeigte sich in Bezug auf das Wachstum ein bedeutender Unterschied. Die erste Form wächst bedeutend rascher, färbt die verflüssigte Gelatine dunkler, zeigt nach einem Monate grünliche Fluorescenz und in der Oberflächenhaut 20 μ lange und längere Stäbchen, die der zweiten Form zeigt erst nach 2 Monaten beginnende Fluorescenz; die verflüssigte Gelatine bleibt hell, gelblich; die Stäbchen der Oberflächenhaut sind nur 8—10 μ lang.

Mit Ausnahme der Abänderung a) sind die Stäbchen dieser Varietät durchschnittlich 3 μ lang, verlieren beim Aelterwerden die Beweglichkeit bald, auf Milchzucker-Gelatine werden dieselben etwas länger (3—4 μ) und kräftiger und sind lebhafter beweglich. An Länge und Kräftigkeit bleiben dieselben aber weit hinter denen der Varietät No. 6 zurück. Auch die Sporen sind kleiner als gewöhnlich, $1—1^1/_2$ μ lang und $^3/_4$ μ breit; die Sporenbildung ist auf der Platte schon nach 6 Tagen bemerkbar.

S t i c h k u l t u r e n. Mäßig trichter- und kesselförmig verflüssigend (Taf. I, Fig. 15), erzeugt keine Gasblasen. Die Verflüssigung schreitet langsam vorwärts, reichlicher Bodensatz und Hautbildung. Aeltere aufgelöste Milchzucker-Gelatine hat von lichter Varietät eine gelbrote, von dunkler Varietät eine dunkelrotbraune Färbung. In Glycerin-Gelatine zeigt sich schwache Fluorescenz in Grüngelb; bei der dunklen Varietät auch in gewöhnlicher Gelatine. In Uebereinstimmung hiermit zeigt auch die Kartoffelkultur schwach-karminrote Flecken.

K a r t o f f e l k u l t u r. Auf saurer Kartoffel anfangs mattgrauer, dann grünlich-gelber und grünlich-grauer, zum Schlusse matt-hellgrauer Belag, mit lichtkarminroten Flecken. Keine Gärung im Kondenswasser. Der Belag ist dem von No. 1 in jüngerer Kultur ziemlich gleich, aber nicht gefaltet. Auf alkalischer Kartoffel ist der Belag heller, gelblich wachsglänzend, mit breitem, licht-karminrotem Streif an der Impfstelle.

A g a r s t r i c h k u l t u r. Wachsgelber bis gelbbrauner dünner Belag mit höckeriger und gerunzelter Oberfläche, fettglänzend. Rand strahlig, fein gezackt.

M i l c h k u l t u r. Milch gerinnt nicht. Das Kaseïn wird verhältnismäßig rasch ohne Fällung zu einer honiggelben Flüssigkeit gelöst (peptonisiert). Gasentwickelung tritt hierbei n i c h t ein. Im Lösungsvermögen steht diese Varietät der Varietät No. 1 nahe und übertrifft die fluorescierende Form derselben. — Diese Varietät zeigt also selbst wieder große Variabilität. Durch die fluorescierenden, auf Kartoffel

roten Farbstoff produzierenden Formen sowie verschiedene Uebergänge schließt sie sich eng an No. 1 an. Sie erinnert an Bacillus liquefaciens.

No. 3. Gering lösende, schwach gärende Form.

Sehr blasse, beinahe wasserhelle Kolonieen, die im Anfangsstadium denen von No. 1 ziemlich gleichen, sich aber später mit breiten Lappen rapid ausbreiten (Taf. I, Fig. 5), so daß sie bei Zimmertemperatur binnen 24 Stunden auf Peptonplatten auf das 3—4 fache, auf Milchzucker-Gelatine auf das 6—7 fache im Durchmesser anwachsen. Sie wachsen unterhalb der Gelatine und verflüssigen wenig. Auf Milchzucker-Gelatine-Platten finden sich bei der Aussaat aus den Originalkulturen bedeutend mehr als auf Fleischwasser-Gelatine und werden auf denselben besser sichtbar, weil sie mehr weiß sind. Bei der zweiten Aussaat von einer speziell von einer solchen Kolonie angelegten Stichkultur in Milchzucker-Gelatine zeigen die einzelnen Kolonieen ebenfalls das rasche extensive Wachstum, sind anfangs noch viel blasser und zarter, als bei der ersten Kultur, so daß sie auf der Platte nur bei schiefer Draufsicht zu bemerken sind. Auf der Milchzucker-Gelatineplatte zeigt nur etwa der vierte Teil strahliges Wachstum und größere Randlappen (Taf. I, Fig. 7), ein Teil der Kolonieen zeigt die kreisrunde scharfrandige Form von No. 1 und ist gleichmäßig getrübt, ein anderer Teil zeigt vorübergehend dichteren Mittelfleck mit strahliger Umsäumung desselben (Taf. I, Fig. 6). Auf der Peptonplatte zeigen alle Kolonieen bei schwacher Vergrößerung flockigen Rand und öfter Ausbreitung in größeren Lappen.

Es tritt schon auf der Platte Sporenbildung ein; die Sporen sind $1^1/_2$—2 μ lang und 1 μ breit.

Stichkulturen. Energisches Wachstum, viel rascher als Varietät No. 1, verflüssigt trichterförmig und dringt mit blasser Wuchszone in die Gelatine vor (Taf. I, Fig. 16 und 17). In Milchzucker-Gelatine ähnliches, noch rascheres Wachstum. Gasentwickelung in Milchzucker-Gelatine fehlend (?), in Fleischwasser-Gelatine sehr gering, in Glycerin-Gelatine dagegen bedeutend. Desgleichen tritt bei Kultur in Milch lebhafte Gärung auf. Verflüssigte Gelatine bleibt hell. Milchzucker-Gelatine wird licht-gelbrot.

Agarstrich. Ueppiges Wachstum; wachsartiger, matt weißer Belag, breitet sich mit feingezackten Fortsätzen aus und zeigt auf der Oberfläche gelbliche, tropfenartige Höcker.

Kartoffelkultur. Anfangs wachsartiger, tropfenförmiger und traubiger Ueberzug, später gelbweiße, netzartig gerunzelte Haut.

In Milch tritt erst spät Gerinnung ein. Die Lösung des ausgefällten Kaseïns sehr mangelhaft. Gärung dagegen meist lebhaft.

Diese Varietät ist der Varietät No. 1 sehr ähnlich und kann als solche mit beginnendem Gärungsvermögen angesehen werden. Labausscheidung mäßig, Gärungsvermögen bedeutend, Peptonisierung sehr gering. Nach längerer Kultur in Milchzucker-Gelatine steigert sich dieselbe und zeigt sich bei Abimpfung von 3 Jahre alter vertrockneter Kultur als sehr bedeutend.

No. 4. Mäßig peptonisierende, stark gärende Form mit geringer Milchsäurebildung.

Kolonieen sowohl auf gewöhnlicher als Milchzucker-Gelatine verflüssigend, trübweiß, in konzentrischen Schalen oder Schichten wachsend, mit breitem, dichterem Kern oder Mittelfleck, der von einem zierlichen Adernetze umgeben ist, das sich später in feine Flocken auflöst. Bei schwacher Vergrößerung bemerkt man, daß der Rand feinstrahlig, wie mit feinen Nadelspitzen besetzt oder fein gekerbt erscheint (Taf. I, Fig. 8—10). Auf gewöhnlicher Gelatine erscheinen die Kolonieen zarter, zeigen aber ebenfalls feinstrahligen Rand und von einem Adernetz umgebenen Mittelfleck. Diese Kennzeichen finden sich auch, nachdem diese Form, um dieselbe auf ihre Konstanz zu prüfen, längere Zeit in gewöhnlicher Gelatine kultiviert und neuerdings auf die Platte ausgesät wurde. Durch die längere Kultur in gewöhnlicher Gelatine nähert sich die Form mehr der von No. 1. Die Kolonieen werden auf der Platte über 2 cm breit, ehe sie abfließen. Die Bacillen der Plattenkolonieen sind häufig 8—10 μ lang und bis 1 μ breit, kürzere 5—7 μ und erscheinen oft in langen Fäden angeordnet; sie sind viel beweglicher, als die von No. 1, aber weniger beweglich, als die von No. 6 und auf gewöhnlicher Gelatine kürzer. Es tritt schon auf der Platte Sporenbildung ein. Sporenbildung meist in der Mitte der Stäbchen unter Anschwellung.

Stichkulturen (Taf. I, Fig. 18). Wenig und sehr langsam im oberen Teile verflüssigend und Haut bildend, im unteren Teile des Stichkanals in zerstreuten Punkten wachsend, die feste Gelatine von Gasblasen durchsetzt. In Milchzucker-Gelatine rascher wachsend und verflüssigend. In Glycerin-Gelatine tritt keine Gasentwickelung ein (?) (zum Unterschiede von T. urocephalum — Varietäten, die alle lebhaft gären und energisch verflüssigen). Selbst in 6 Monate alten Stichkulturen, die ganz verflüssigt sind, erscheint sowohl Milchzucker- als Glycerin-Gelatine nicht dunkel gefärbt, nur in ganz geringem Maße gewöhnliche Gelatine.

Agarstrichkultur. Ueppig wachsend. Gelblich-weißer, dicker Belag, in der Mitte erhaben, feinhöckerig, am Rande fein doppelt gezackt.

Kartoffelkulturen. Auf saurer Kartoffel mäßig wachsend, dünner, graulich-weißer, ziemlich trockener Belag, der sich beim Eintrocknen in kleine Falten legt. Im Kondenswasser keine Gärung. Auf alkalischer Kartoffel bedeutend besser wachsend, sich mit feinen Lappen ausbreitend. Bildet nach etwa 8 Tagen einen dicken gelblichen Belag. Im Kondenswasser lebhafte Gasentwickelung.

Milchkulturen. Bei Zimmertemperatur (15—20° C) gerinnen die Milch erst nach 7—10 Tagen, von oben an beginnend, kompakt gallertartig unter lebhafter Gasentwickelung, die das Kaseïn mit Rissen und Sprüngen durchsetzt. Später wird das Kaseïn feinflockig und dann grobklumpig und es sammelt sich oben weißgelbes Serum an. Gleichzeitig findet eine schwache Lösung (Peptonisierung) statt, die aber sehr langsam fortschreitet.

Bei Brüttemperatur tritt die Labgerinnung der Milch frühzeitig ein; schon am 2. Tage ist dieselbe gleichmäßig gallertartig geronnen. Milchkulturen zeigen käsigen Geruch und schwach saure Reaktion.

No. 5. Schwach verflüssigende, stark gärende Form.

Kolonieen auf Fleischwasser-Pepton-Gelatine mit breitem rosettenartigem oder rundem, scharf begrenztem Mittelfleck und klarer, breiter Verflüssigungszone (Taf. I, Fig. 11).

Stichkulturen mit mäßiger Verflüssigung und lebhafter Gasentwickelung, mehr verflüssigend als die folgende Form.

Kartoffelkultur. Auf saurer Kartoffel dünner, gelblich-weißer, stark glänzender Belag, sehr stark gärend. Auf alkalischer Kartoffel üppig, grobfaltig in zahlreichen Gasblasen erhoben, im Kondenswasser besonders stark gärend.

Milchkultur. Sehr lebhaft gärend, gerinnt sehr spät und wird wenig peptonisiert.

No. 6. Trockene, flechtenartige Form, Milchsäure produzierend und stark gärend.

Bei der Anlage von Gelatineplatten aus den Originalkulturen Duclaux' tritt diese Form auf Milchzucker-Gelatine in größerer Zahl, auf gewöhnlicher Gelatine zu etwa $^1/_8$ der Kolonieen auf. Die Kolonieen stellen kompakte, weiße, meist unregelmäßig buchtig gelappte, selten runde oder nierenförmige Auflagerungen vor (Taf. I, Fig. 12), welche die Gelatine nicht verflüssigen, sondern nur in der unmittelbaren Umgebung erweichen, so daß sie meist eingesunken sind. Durch die Platte besehen, erscheinen sie bei schwacher Vergrößerung dicht weißgekörnt, von der Oberseite betrachtet, gebirgskartenartig gerunzelt, etwa wie manche Laubflechten. Sie wachsen sehr langsam und erreichen auf Milchzucker-Gelatine eine Breite von 4—5 mm, auf gewöhnliche Gelatine von 3 mm, sind aber auf Milchzucker-Gelatine blässer.

Von einer solchen flechtenartigen Kolonie wurden Gelatinestichkulturen und von diesen nach längerer Zeit abermals Plattenkulturen angelegt. Auf der Milchzucker-Gelatineplatte sind die Kolonieen nach 5 Tagen 4 mm breit flechtenartig, einige zeigen schon eine Verflüssigungszone, andere sind nach 10 Tagen noch nicht verflüssigt. Erst nach 16 Tagen sind in den verflüssigten Kolonieen Sporen zu bemerken, in den flechtenartigen noch später. Auf der Fleischwasser-Gelatineplatte verflüssigen die Kolonieen sofort mit strahligem Rande, breiten sich langsam aus und werden dabei immer heller. Sporen sind schon nach 6 Tagen zahlreich vorhanden ($1^1/_2$—2 μ lang und 1 μ breit). Die Stäbchen sind auf der Milchzuckerplatte bedeutend länger und kräftiger als in den Kolonieen der Fleischwasser-Gelatineplatte, auf der ersteren sind sie meist 8—10 μ lang und etwa 1 μ breit, am längsten und kräftigsten in den trockenen Kolonieen und zugleich außerordentlich beweglich, besonders am Rande der Kolonieen, während sie auf der gewöhnlichen Gelatineplatte durchschnittlich 3—4 μ, selten 6 μ lang und höchstens $^1/_2$ μ breit werden. Die verspätet aus der Tiefe der Gelatine gekommenen Kolonieen enthalten bedeutend kürzere Stäbchen. In Milchkulturen werden die Stäbchen 20, 30—100 μ lang.

Stichkulturen. (Taf. I, Fig. 19.) Die Verflüssigung der Gelatine tritt erst spät und nur oberflächlich ein; in der verflüssigten Gelatine sammeln sich zahlreiche Gasblasen und die feste Gelatine ist

ebenfalls von Gasblasen durchsetzt. Diese Varietät zeigt vorzüglich Oberflächenwachstum, während No. 4 und 5 auch bei geringem Luftzutritte ganz gut wachsen. In der Milchzuckergelatine geht die Verflüssigung und Gasentwickelung lebhafter vor sich, noch lebhafter in Glyceringelatine, die Flüssigkeit schäumt. Selbst nach 2 Monaten ist die Gelatine nicht vollständig verflüssigt. Die verflüssigte Gelatine bleibt auch nach 6 Monaten noch hell.

Würzegelatine wird nicht immer verflüssigt.

Agarstrichkultur. Wächst langsam, bildet dicken, wachsgelben, wenig fettglänzenden, in der Mitte erhabenen und gerunzelten Belag. Der Rand ist wie bei den übrigen Formen mit feingekerbten Lappen versehen.

Kartoffelkultur. Auf saurer Kartoffel dünner, weißlicher, wenig glänzender Belag mit verwaschenen Konturen, von einigen Gasblasen durchsetzt. Im Kondenswasser lebhafte Gärung. Auf alkalischer Kartoffel schärfer begrenzt, glänzend.

Milchkultur. Nach wenigen Tagen zeigt sich in der Rahmschicht lebhafte Gasentwickelung, die Milch gerinnt langsam von oben nach unten und ist bei Zimmertemperatur in etwa 10 Tagen gallertartig. Die Peptonisierung schreitet außerordentlich langsam fort. Gärung dauert fort.

Die Milch zeigt sehr bald eine stark saure Reaktion; das Bakterium bildet Milchsäure; dieselbe wurde als solche aus dem Calciumlaktat erkannt. Aeltere Milchkulturen besitzen einen alkoholischen Geruch, und ich glaube mich nicht getäuscht zu haben, wenn ich bei der Destillation eine sehr geringe Menge Alkohol (Aethylalkohol?) erhielt. Buttersäure war nicht wahrzunehmen.

Wie sich aus den vorausgegangenen Beschreibungen der einzelnen Varietäten ergiebt, ist T. tenuis eine sehr variable Bakterienart. Die einzelnen Varietäten lassen sich gut charakterisieren und besitzen eine gewisse Konstanz, so daß ich anfangs der Ansicht war, es mit mindestens 2 selbständigen Arten zu thun zu haben. Es stellten sich jedoch bei fortgesetzter Kultur Uebergänge der einen Varietät in die andere heraus und es ergab sich eine Variationsreihe, die sich durch entsprechende Kultivierung nach verschiedenen Richtungen erweitern ließe. Wie ein Blick auf die Taf. I, Fig. 1—12 belehrt, tritt die Variabilität von T. tenuis schon in der Mannigfaltigkeit der Kolonieen auf Gelatineplatten deutlich hervor. Extreme Formen sind die kreisrunden, klar verflüssigenden Kolonieen (Fig. 1) der Milch stark peptonisierenden Varietät No. 1 und die trockenen, flechtenartigen Kolonieen (Fig. 12) der Milchsäure produzierenden und stark gärenden Varietät No. 6. Die übrigen Kolonieen zeigen in der Form Annäherungen an die erste oder zweite Form; die blasseren, stärker verflüssigenden gehören den stärker peptonisierenden, die dichter wachsenden, meist mit dichter Mittelrosette versehenen, den gärenden Varietäten an. Danach läßt sich also schon aus der Form der Kolonieen ein Schluß auf die physiologischen Eigenschaften der betreffenden Varietät ziehen. Auch die Stichkulturen in gewöhnlicher und in Milchzuckergelatine zeigen ähnliche Unterschiede. Während

die peptonisierenden Varietäten rasch und gleichmäßig verflüssigen, zeigen die gärenden geringe Verflüssigung bis zu vollkommen trockenem Wachstume (bei No. 6 in Milchzuckergelatine); in sehr charakteristischer Weise treten bei letzteren zahlreiche Gasblasen in der Gelatine auf und zwar in gewöhnlicher Gelatine nicht weniger, unter Umständen sogar mehr als in Milchzuckergelatine. Die Agar-Strichkulturen wachsen bei allen Varietäten mit charakteristischem doppeltgelapptem Rande in die Breite, wie es in gleicher Weise bei T. urocephalum vorkommt und auf Taf. I, Fig. 29 abgebildet ist; bei letzterer Art zeigte sich jedoch die Mitte des Striches meist vertieft, bei den Tenuis-Varietäten erhaben.

Auf Kartoffeln gedeihen alle Varietäten gut, die stark peptonisierenden Formen sogar üppig. Die letzteren bilden einen mattgrauen, grobfaltigen bis netzartig gerunzelten Belag, die gärenden Varietäten sind heller bis gelblich-weiß, wachsen langsamer und zeigen glatten, am Rande gelappten Belag.

Charakteristisch ist die Wirkungsweise der einzelnen Varietäten in sterilisierter Milch. Alle besitzen die Fähigkeit der Lababscheidung und der Peptonisierung des Kaseïns; dieselben treten bei No. 1 am stärksten, bei No. 6 am schwächsten hervor, können aber durch Kultur auf gewissen Nährböden gesteigert werden. Bei den Varietäten 4—6 tritt daneben noch Milchsäurebildung und mehr oder minder lebhafte Gasentwickelung (wohl von CO_2 und H) auf, und es zeigt sich mit dem Hervortreten der letzten zwei Funktionen eine Abnahme der beiden ersteren. Bezeichnend ist, daß selbst bei der Varietät No. 1 unter Umständen schwache Gasentwickelung eintreten kann, so daß die Fähigkeit der Säurebildung und Gasentwickelung bei den peptonisierenden Formen gewissermaßen latent zu sein scheint. (Fortsetzung folgt.)

Ueber die bei der Sakebereitung beteiligten Pilze.

Vorläufige Notiz

von

J. Kosai und K. Yabe

in

Tokio.

Bis jetzt wurde von verschiedenen Autoren angenommen, daß bei der Sakebereitung ein einziger Pilz, Aspergillus Orizae, die Hauptrolle spiele; er liefere nicht nur die Diastase zur Verzuckerung der Stärke, sondern auch die Konidien, welche alkoholische Gärung herbeiführen [1]). Nach unseren Untersuchungen jedoch handelt

1) Vergl. Juhler, dieses Centralbl. Abth. II. 1895. No. 1. p. 16 und die anzweifelnden Bemerkungen von Ch. Hansen. ibid. p. 46.

es sich hier um zwei ganz verschiedene Organismen. Stellt man eine Plattenkultur von Koji her (dem mit Aspergillus infizierten Reis), so bekommt man sofort zwei verschiedene Kolonieen, die des Aspergillus und die einer Hefe. Infiziert man eine Pasteur'sche Nährlösung mit der Aspergilluskolonie, so resultieren immer nur wieder Mycel und Sporen, niemals aber eine Sproßform. Wird andererseits von den Hefekolonieen in zuckerhaltige oder zuckerfreie Nährlösungen geimpft oder auf gekochten Reis oder Kartoffeln übertragen, so resultiert niemals eine Spur von Mycel. Der in Frage stehende Aspergillus wurde kürzlich von Wehmer beschrieben [1]); was aber die Sakehefe betrifft, so behalten wir uns ausführliche Mitteilungen vor. Bei der Impfung auf Reis oder bei mehrtägigem Verweilen auf feuchtem Gips bildet diese Hefe 1—3 Ascosporen; von diesen befinden sich auch viele im Koji, gemischt mit den Sporen des Aspergillus, wie die genauere mikroskopische Untersuchung erkennen läßt. Die Hefe entstammt also beim Sakebrauen auch nicht der Luftinfektion, was auch schon deshalb ganz unwahrscheinlich ist, weil die Gärung so rasch und mit großer Energie einsetzt, also eine große Menge Hefe (resp. Ascosporen) vorhanden sein muß. Von allen Hefearten gleicht die Sakehefe am meisten dem Saccharomyces cerevisiae. Wir sind damit beschäftigt, sorgfältige und eingehende Vergleiche mit diesem anzustellen.

Tokio, College of Agriculture, 20. Mai 1895.

Ungewöhnliches Auftreten von Ascochyta pisi Lib. an Erbsenpflanzen.

Von

Dr. Friedr. Krüger

in

Berlin.

Die zu den sogenannten unvollständigen Pyrenomyceten gehörige Gattung Ascochyta ist bekanntlich dadurch charakterisiert, daß sie als Früchte Pykniden mit kleiner porenförmiger Oeffnung am Scheitel bildet, durch welche die zweizelligen Sporen, in Schleim gehüllt, bei der Reife ausgestoßen werden. Der auf Erbsen häufig vorkommende Pilz Ascochyta pisi Lib. pflegt auf diesen einzelne isolierte, kleinere oder größere Flecken an Stengeln, Blättern und Schoten hervorzurufen, und da es sich doch meistens nur um partielle Erkrankung der Pflanzen handelt, relativ geringen Schaden zu machen.

Gelegentlich eines mit Erbsenpflanzen in der Versuchsstation zu

1) Dieses Centralblatt Abt. II. Bd. I. 1895. No. 4—6.

Tharand vorgenommenen physiologischen Versuchs beobachtete nun schon Hiltner[1]), daß die Pflanzen, als sie kurz vor der Blüte waren, plötzlich vom Wurzelhals aus an Ascochyta pisi erkrankten und abstarben. Er konstatierte ferner, daß schon das Saatgut krank gewesen, daß demnach der Pilz schon durch dieses auf die junge Pflanze übertragen war, und empfiehlt deshalb event. Beizung des Saatgutes.

Außer dieser nur an einzelnen Pflanzen beobachteten Erscheinung liegen aus den letzten Jahren auch aus der Praxis einige Angaben vor, daß Erbsenpflanzen unter wurzelbrandartigen Erscheinungen plötzlich abgestorben seien. Meistens wird dabei Pilzmycel erwähnt, ohne daß dasselbe weiter untersucht und bestimmt worden ist.

Zwei ganz analoge Fälle von einem abnormen Auftreten von Ascochyta pisi hatte ich im vorigen Jahre Gelegenheit zu beobachten, doch handelte es sich dabei nicht um ein vereinzeltes Absterben einiger weniger Pflanzen, sondern um ein vollständiges Mißraten der in großem Maßstabe angebauten Feldfrucht.

In beiden Fällen waren auf diesen Gütern schon seit längerer Zeit Erbsen im Großen mit gutem Erfolge gebaut. Auch in diesem Jahre waren die Samen gut aufgelaufen und die Pflanzen hatten sich gut entwickelt, bis dann plötzlich ein Wachstumsstillstand eintrat und die Pflanzen in ganz kurzer Zeit, vom Wurzelhalse beginnend, an ihren ober- und unterirdischen Teilen abstarben. Alle abgestorbenen Teile hatten sich geschwärzt und auf ihnen waren kleine schwarze Punkte in Unzahl sichtbar, die sich unter dem Mikroskope als Pykniden von Ascochyta, meist schon mit reifen Sporen, auswiesen.

In dem einen der erwähnten Fälle begann die Erkrankungserscheinung, als die Pflanzen blühten, also schon ziemlich weit vorgeschritten waren. Sie hatten es deshalb auch bis zu einem allerdings spärlichen Fruchtansatze gebracht. In dem anderen Falle waren sie aber in einem viel jugendlicheren Zustande ergriffen und abgestorben, schon lange vor der Blütezeit, so daß die ganze Erscheinung in der That etwas an den Wurzelbrand erinnert, womit man ja freilich eine spezifische Erkrankung der Keimpflanzen bezeichnet. Auch hier hatte sich der Pilz unter Schwärzung auf den Vegetationsorganen, sowie auf den Wurzeln verbreitet, und befand sich in üppigster Fruktifikation.

Der Pilz, von dem bisher also nur bekannt war, daß die durch ihn veranlaßte äußere Krankheitserscheinung sich auf kleinere Blatt- und Stengelteile fleckweise beschränkt, hatte sich in diesen Fällen über den Gesamtorganismus ausgebreitet und diesen vernichtet.

Die Ursache dieser heftigen Erkrankungsform lag darin, daß das Saatgut bereits stark infiziert war, und daß außerdem die Witterungsverhältnisse des vorigen Jahres den Pilz wohl besonders begünstigten. Daß eine Uebertragung von Ascochyta pisi durch erkrankten Samen auf die aus diesen hervorgehenden jungen Pflanzen möglich ist, hat Jarius[2]) bereits experimentell bewiesen, und daß die Samen

1) Hiltner, Erbsenmüdigkeit. (Sächs. landw. Zeitung. 1894. No. 18.)

2) Die betreffenden, im Institute für Pflanzenphysiologie und Pflanzenschutz der

innerhalb der Schoten, auf denen der Pilz einzelne erkrankte Stellen hervorgebracht, durch denselben infiziert werden können, ist ebenfalls schon bekannt. Auch im vorliegenden Falle waren die Samen die Ueberträger der Krankheit gewesen. Es befand sich unter denselben eine ganze Anzahl, auf deren Oberfläche eigentümlich schmutzig grüne Flecken sichtbar waren, die namentlich nach dem Aufquellen in Wasser deutlich hervortraten.

Diese Stellen erweisen sich unter dem Mikroskope als stark verpilzt. Nach 24 Stunden sind die Pilzfäden schon dem bloßen Auge sichtbar, denn sie sprossen reichlich aus der Oberhaut hervor und bilden kleine weiße, die ganze Ausdehnung der Flecken bedeckende Pilzrasen. Bei längerem Liegen im Wasser greifen diese Fäden auch auf die anscheinend noch gesunden Stellen der Erbsen über, so daß diese schließlich wie von einem weißen, ganz zarten Pilzmantel von radial gestellten Fäden umgeben zu sein scheinen.

Der in den Erbsen verborgene Pilz war demnach noch völlig lebenskräftig[1]) und begann, wenn die Erbsen in Nobbe'sche Keimapparate gebracht wurden, schon nach 2—3 Tagen zu fruktifizieren, indem er auf der äußeren oder inneren Seite der Oberhaut, der Cotyledonen oder des Embryos selbst, je nach der Lage der ursprünglichen Infektionsstelle, die bekannten rötlich-braunen, kleinen Pykniden mit den zweizelligen Sporen erzeugte.

Der Beweis für die Richtigkeit der oben ausgesprochenen Behauptung, daß nämlich bereits in dem kranken Samen die Ursache der späteren Erkrankung der Pflanzen lag, ist weiter dadurch erbracht, daß Pflanzen, die aus diesem Saatgute hervorgingen, das wieder zwecks Prüfung ausgesäet war, in der nämlichen, oben angegebenen Weise erkrankten. Diejenigen Erbsen, bei denen vor der Aussaat nicht nur solche ausgesucht waren, die sich als besonders stark infiziert erwiesen, sondern bei denen auch der Embryo selbst in Mitleidenschaft gezogen war, keimten nur zu 20 Proz.; die jungen Pflänzchen fingen bald, nachdem sie erst wenige Blätter bekommen hatten, an, zu kränkeln und starben kurze Zeit darauf ab, unter Erscheinungen, die sehr an Wurzelbrand, wie z. B. derjenige an Rübenpflanzen, erinnern, wobei sich auch an allen abgestorbenen Stellen Ascochyta als die Ursache des Siechtums nachweisen ließ. — Anscheinend normal entwickelten sich anfänglich diejenigen Pflanzen, die aus dem nämlichen Saatgute wie die vorerwähnten hervorgegangen, die aber vor der Aussaat, die in diesem Falle ins freie Land vorgenommen wurde, nicht besonders ausgewählt und ausgesucht worden waren. Es fand sich zwar hin und wieder ein durch Ascochyta zu Grunde gegangenes Blatt, an dem dann reichlich die Früchte dieses Pilzes vorhanden waren, aber im allgemeinen schienen die Pflanzen in den ersten Wochen, in denen die Witterung eine für das Pflanzenwachstum günstige war, durchaus gesund. Dann, nach einigen Wochen, als das Wetter feucht und kühl

---

Königl. Landw. Hochschule zu Berlin gemachten Untersuchungen sind noch nicht veröffentlicht.

1) Auch jetzt noch im laufenden Sommer erwies sich das Mycel bei einer Wiederholung des Versuches als vollständig lebenskräftig und verhielt sich genau in der angegebenen Weise.

geworden und dadurch das Wachstum der Pflanzen etwas ins Stocken geraten war, gewann plötzlich der Pilz, den bis dahin die üppig wachsenden Pflanzen in Schranken gehalten hatten, die Oberhand. Sehr schnell schwärzte sich ein Teil der Pflanzen, beim Stengel, von der Basis aus, beginnend, auf kleinere oder größere Strecken und dann die benachbarten Seitentriebe und Blätter in Mitleidenschaft ziehend. Die an der Basis der Stengel und am Wurzelhalse besonders stark auftretende Erscheinung erwies sich bei mikroskopischer Betrachtung als von starker Pilzwucherung begleitet, und alle erkrankten Stellen waren hier gerade wie im vorher erwähnten Falle mit zahllosen Ascochyta-Pykniden voll reifer Sporen dicht besetzt.

Wasserkulturen, die in der sonst üblichen Weise mit diesen Erbsen vorgenommen wurden, ergaben genau dasselbe Resultat; hierbei starben die Pflanzen ebenfalls schon ab, nachdem sie erst etwa 10—15 cm hoch geworden waren.

Es waren also unzweifelhaft die Samen die Ueberträger der Krankheit. Interessant und für die Landwirtschaft von besonderer Wichtigkeit, da man bei ihr die Güte des Saatgutes nach der Keimkraft beurteilt, ist es, daß die Keimkraft, vorausgesetzt, daß der Embryo selbst trotz der Anwesenheit des Pilzes nicht sehr stark gelitten, nicht geschwächt wird.

Mehrfach angestellte Versuche, die mit dem Samen in Nobbeschen Keimapparaten angestellt wurden, haben dies stets bestätigt. Es keimten meistens 100 Proz., obgleich sich viele Erbsen gleich nach dieser Zeit schon als stark verpilzt auswiesen und an den verschiedenen Stellen schon reichlich mit Ascochyta-Sporen besetzt waren.

Da sich nach dem Voraufgehenden unzweifelhaft der Same als der Ueberträger der Krankheit auf die Pflanzen des nächsten Jahres erwiesen hat, müssen sich die Bekämpfungs- resp. Vorbeugungsmittel naturgemäß auf diesen richten. Bereits an anderer Stelle habe ich die Resultate meiner Versuche über die Einwirkung von Desinfektionsmitteln auf Erbsen kurz zusammengestellt. Die gewonnenen Resultate sind folgende:

Lösungen von Sublimat (1:10000), Karbolsäure 0,5 : 100; Formaldehyd in stärkerer Konzentration als 0,04 Proz.[1]), ferner sogar schon 0,5 Proz. Kupferkalkbrühe vernichten bei 24-stündiger Einwirkung und darauf folgendem stundenlangen Liegen in öfter gewechseltem Wasser die Keimkraft der Samen vollständig. Selbst 5-stündige Beizung der Erbsen in 2-proz. Kupferkalklösung schädigt bereits die Keimkraft, während andererseits 4-proz. Brühe (etwa 3-stündige Einwirkung und nachfolgende 20-stündige Behandlung mit öfter erneuertem sterilisiertem Wasser) die Keimkraft kaum noch nachteilig beeinflußt. Formalinlösung von geringerer Stärke als die oben erwähnte ist selbst bei 24-stündiger Einwirkung in keiner Weise schädigend für die Keimung.

Die Erbsen sind demnach relativ sehr empfindlich gegen die Ein-

---

1) Dies entspricht 0,1 Proz. von der im Handel unter dem Namen „Formalin“ käuflichen Flüssigkeit, die 40 Proz. des Gases enthält.

wirkung chemischer Substanzen, was zum Teil in dem anatomischen Bau derselben begründet sein dürfte. Der Pilz andererseits, der tief in das Innere des Samens eindringt, zeigt sich bei den Beizungsversuchen ziemlich widerstandsfähig. So entwickelte er sich im Keimapparate an Erbsen, die z. B. 4 Stunden in 4-proz. oder 20 Stunden in 2-proz. Kupferkalkbrühe gelegen hatten, bei denen also schon eine Schädigung der Keimung stattgefunden, noch sehr üppig und ungeschwächt. Aehnlich tritt auch bei den anderen erwähnten Reagentien schon eher eine Benachteiligung der Keimkraft der Samen, als eine Schwächung oder Vernichtung des Pilzes ein.

Den nämlichen Mißerfolg liefert die Erhitzung der Samen. Eine 5 Minuten dauernde Erwärmung von Samen, der teils im Wasser vorgequollen, teils direkt verwendet wurde, auf 53—53,8° C drückte die Keimkraft schon wesentlich herab, während der Pilz nicht im mindesten geschädigt wurde.

Auch trockenes Erhitzen, wogegen der Same ja bekanntlich viel weniger empfindlich ist, erwies sich, wenigstens für die Praxis, als unzweckmäßig, da bei etwa 80° C die Keimkraft schon leiden kann, wenn sie nicht sehr allmählich und vorsichtig besorgt wird und andererseits der Pilz durch diese Temperatur nicht mit Sicherheit getötet wird.

Die Samenbeize, die sich in anderen Fällen oft als sehr wirksam zur Bekämpfung von pilzlichen Parasiten erwiesen hat, läßt uns also in diesem Falle vollständig im Stiche.

Aus dem Gesagten geht hervor, daß Ascochyta pisi unter Umständen recht gefährlich werden kann und daß auch sie zu denjenigen Pilzen gehört, denen wir in Zukunft eine erhöhte Aufmerksamkeit werden schenken müssen.

Bei gekauftem Saatgute ist eine Prüfung desselben angebracht, die sich freilich in diesem speziellen Falle nicht so sehr auf die Keimkraft, sondern vielmehr auf das sonstige Verhalten der Erbsen in Wasser und im Keimapparate erstreckt. Wenn sich hierbei gelblichgrüne Stellen zeigen, wird man bei Anwesenheit von Ascochyta nach 24-stündigem Liegen desselben in Wasser die erwähnten kleinen weißen Mycelfäden aus den Erbsen hervorsprossen sehen, und bei weiterem, etwa 3-tägigem Liegen im Nobbe'schen Keimapparate werden sich die charakteristischen Pykniden bilden. Solche Samen sind nach dem oben Gesagten als schlecht zu verwerfen und als zu Saatzwecken ungeeignet zu bezeichnen.

Berlin, Institut für Pflanzenphysiologie und Pflanzenschutz der Königl. Landw. Hochschule, 30. Juni 1895.

Einfache Thermostaten für gärungsphysiologische und bakteriologische Arbeiten, sowie für die Prüfung von Saatwaren.

Von
A. Stutzer und **R. Burri**
in
Bonn.

Genau gearbeitete Thermostaten, in denen die Temperatur nur um ein Zehntel oder einige Zehntel Grade schwankt, werden von allen größeren Handlungen chemisch-physikalischer Apparate geliefert. Dieselben sind, sobald man sie in größeren Dimensionen zu haben wünscht, ziemlich teuer. Bei vielen Arbeiten sind diese feineren Apparate ganz unentbehrlich, bei anderen Versuchen in bakteriologischen und botanischen Laboratorien genügt eine Schwankung von $\pm$ 1° C, um brauchbare Resultate zu erzielen. Solche Thermostaten haben wir uns nach unseren Angaben verhältnismäßig billig herstellen lassen und benutzen sie vorzugsweise bei der Keimprüfung von Saatwaren, bei der Bakterienzüchtung in flüssigen Nährmedien und auch bei Gärungsversuchen, also bei Arbeiten, die in den Laboratorien der landwirtschaftlichen Versuchsstationen häufig vorkommen. Die nähere Einrichtung eines solchen Thermostaten wird aus folgender Beschreibung ersichtlich sein.

Die Grundform desselben ist diejenige eines 2-thürigen Schrankes, welcher auf einem starken, schmiedeeisernen Fußgestell ruht. Die Höhe des letzteren ist der Verwendung von gewöhnlichen Bunsenbrennern angepaßt. Der Schrank selber besitzt einen inneren verfügbaren Raum von 110 cm Höhe, 86 cm Breite und 40 cm Tiefe, entsprechend 0,378 m Rauminhalt. Dieser Raum ist zum Schutze gegen Wärmeabgabe mit einem dreifachen Isoliermantel umgeben. Die äußerste Lage desselben wird durch eine Holzverkleidung gebildet, welche den eigentlichen Schrank von allen Seiten mit Ausnahme des Bodens umgiebt. Dieser Holzmantel ist in seiner ganzen Ausdehnung inwendig mit einer Lage von starkem Filze, welcher die zweite Isolierschicht bildet, ausgeschlagen. Die Frontseite des Holzgehäuses trägt in Scharnieren die beiden Thüren aus Eisenblech, die auch ihrerseits auf der Innenseite je eine mit Zinkblech überdeckte Filztafel tragen. Das Holzgehäuse läßt sich samt Filzauskleidung und Thüren als Ganzes glockenartig von dem innersten Teile, dem Wasserbehälter, entfernen, so daß letzterer zum Zwecke einer allfälligen Reparatur leicht zugänglich ist. Der Wasserbehälter besteht aus einem mit Abflußhahn versehenen doppelwandigen Zinkblechkasten, welcher alle Seiten des Thermostaten mit Ausnahme der Thürseite umgiebt, und dessen Wände einen Abstand von 2 ccm haben. Der Boden der äußeren Wand, welcher als Heizfläche dient, ist aus Kupferblech gefertigt. Die äußere Wand der Decke trägt links und

rechts je eine kreisförmige Oeffnung, welche für die Wasserzufuhr dienen. Eine ebensolche Oeffnung, bezw. ein Tubus, durchbricht die äußere und innere Zinkwand der Decke in der Mitte und ist für die Aufnahme des Thermoregulators bestimmt.

Da bei Verwendung so großer Flächen, wie sie durch die Dimensionen unseres Thermostaten bedingt sind, ein Ausbiegen der Wandungen schwer zu vermeiden ist, so füllten wir ursprünglich versuchsweise den Zinkschrank nur zu $^1/_4$—$^1/_3$ der Höhe mit Wasser. Dadurch waren wir genötigt, entgegen einem allgemein befolgten Prinzipe, den Thermoregulator nicht im Wasserraume, sondern im Luftraume des Wärmeschrankes anzubringen. Wir konnten uns aber bald von der vollständig befriedigenden Leistungsfähigkeit derartig montierter großer Wärmeschränke überzeugen und sind seither von obiger Anordnung nicht abgewichen. Die innerste Isolierschicht wird demnach im unteren Teile von einem Wassermantel, im oberen von einem Dampfmantel gebildet. Als Regulator benutzen wir einen einfachen von Rohrbeck in Berlin bezogenen Dampftensionsregulator, dessen unterer Teil vollständig von der Luft des Versuchsraumes umspült wird. Die Temperatur im Innern des Schrankes schwankt zu Zeiten gleichmäßiger Außentemperatur während mehreren Tagen um weniger als $^1/_2$ ° C; zu Zeiten rascher und großer Wechsel, wie sie z. B. im Winter das Heizen und Lüften eines Zimmers mit sich bringt, kann die Differenz der Grenzen $1^1/_2$ ° C betragen. Als Wärmequelle dient ein gewöhnlicher, mit Schutzvorrichtung gegen das Zurückschlagen versehener Bunsenbrenner.

Die innere Ausrüstung des Thermostaten besteht aus einem in sich fest verbundenen und als Ganzes herausnehmbaren Gerüste von Winkeleisen, welches einerseits als Widerstand gegen den auf den Boden und die Wände des Zinkkastens ausgeübten Druck der großen Wassermenge funktioniert, andererseits gestattet, eine beliebige Anzahl (bis 16) von durchlochten oder nicht durchlochten verzinkten Eisenblechwannen aufzunehmen.

Durch geeignete Anordnung der Blechwannen ist es möglich, beliebig hohe bezw. breite Räume innerhalb der Grenzen des gegebenen Gesamtraumes auszunützen.

Die eine der untersten Wannen ist beständig mit Wasser gefüllt, so daß die Luft des Versuchsraumes eines gewissen Feuchtigkeitsgehaltes nie entbehrt und flüssige wie feste Kulturen am Eintrocknen gehindert werden.

Ganz besonders bewähren sich diese Thermostaten bei der Wertprüfung von Sämereien, wir lassen die kleineren Samen, z. B. diejenigen der Kleearten und Gräser, zwischen feuchtem Filtrierpapiere, größere Samen (Getreide, Rüben u. s. w.) in feuchtem Sande eingebettet, letztere in lackierten Zinkblechkasten, keimen und genügt ein Schrank von oben angegebenen Dimensionen, um 100 Keimproben gleichzeitig ausführen zu können. Das auf durchlöcherten Blechen ruhende Filtrierpapier wird morgens und abends mit destilliertem Wasser angefeuchtet, wobei der Ueberschuß von Wasser in die unten befindliche Wasserschale abtropft. Der Sand in den Zinkblechkästen erhält eine Zugabe von 26 Volumprozent Wasser, der Kasten wird

mit einer Glasscheibe bedeckt und ist eine Regulierung des Wassergehaltes durch neue Zugabe bis zum Tage der Auszählung gekeimter Samen nicht mehr erforderlich. Für Sämereien, welche nicht völlig im Dunkeln keimen sollen, verwenden wir Thermostaten, in dessen Thür ein Glasfenster angebracht ist.

Angefertigt werden diese einfachen Thermostaten von Franz Müller (Dr. Geißler Nachf.) in Bonn.

Die Verwendung eines luft- und bakteriendichten neuen Verschlusses bei bakteriologischen Arbeiten.

[Mitteilung aus der landwirtschaftlichen Versuchsstation Bonn.]

Von

R. Burri.

Mit 2 Figuren.

Das Volumen der in Reagenzgläser abgefüllten Nährböden bleibt bekanntlich nur während kurzer Zeit soweit unverändert, daß beim Arbeiten die erfolgte Wasserabnahme und die derselben proportionale Konzentration des Nährmediums vernachlässigt werden kann. Will man Nährböden der verschiedensten Art Wochen oder Monate hindurch unverändert aufbewahren, so ist es unerläßlich, die Wasserabgabe aus den Aufbewahrungsgefässen zu verhindern. Dieses geschieht wohl meist dadurch, daß der als bakteriendichter Verschluß dienende Wattestopfen nach vorherigem Absengen und Tränken mit Sublimatlösung in den Hals des Gefäßes gestoßen und sodann der Letztere selber mit einer einfachen sterilisierten Gummikappe überzogen wird. Ich habe früher auch dieses Verfahren befolgt und dabei die Beobachtung gemacht, daß mitunter trotz der angewendeten Sorgfalt Schimmelpilze Zugang zu dem vorher sicher sterilen Nährboden gefunden haben. Namentlich war dies der Fall, wenn die Sublimatmenge für den Wattestopfen etwas spärlich bemessen war. Will man diesem Uebelstande vorbeugen und durchtränkt man den Wattestopfen ausgiebig mit Sublimatlösung, so ereignet es sich hingegen häufig genug, daß bei einem notwendig gewordenen Abflammen des Gläschenrandes dieser letztere in der Hitze bei Berührung mit dem feuchtkalten Wattestopfen springt. Ist dieses nicht der Fall, so bleibt doch immer die Mündung des Reagenzglases verunreinigt, denn der in obiger Weise behandelte Wattestopfen läßt sich nicht so glatt wie im lufttrockenen Zustande aus dem Halse entfernen, es bleibt immer eine Unmenge angesengter Baumwollfäserchen zurück, die sich beim Ausgießen des Inhaltes mit demselben vermischen. Es sind dies alles Unannehmlichkeiten, die bald mehr, bald weniger störend wirken. Im bakteriologischen Laboratorium der Versuchsstation sind wir bei unseren Arbeiten allen diesen Zufälligkeiten enthoben, seitdem wir einen mit selbstthätigem Ventil versehenen, ursprünglich für Aufbewahrung

sterilisierter Milch bestimmten Gummiverschluß anwenden, der auf Veranlassung von Prof. Stutzer hergestellt ist. (D. R.-P. 74460.) Die Wirkungsweise dieses Verschlusses ist aus folgender Beschreibung ersichtlich:

Fig. 1 stellt den kappenförmigen Gummiverschluß dar, wie er vor dem Sterilisieren auf den Hals einer Flasche gestülpt ist.

Der Oberteil der Gummikappe erweitert sich plattenförmig (Fig. 1 *d*) und ist hierin (an der Stelle *e*) ein enger Schlitz angebracht, welcher bis ins Innere des Unterteils *a* geht. Dieser Schlitz, welcher wie im Bunsen-Ventil wirken kann, ist in der Ruhelage der Gummikappe äußerlich nicht sichtbar, da dessen Wände fest aneinander liegen. Wird der Inhalt des Gläschens bis zum Kochen erhitzt, so öffnet sich infolge der Ausdehnung der Luft und des gebildeten Wasserdampfes das Ventil und läßt die Gase entweichen. In dem Momente, in welchem sich äußerer Atmosphärendruck und innerer Dampfdruck das Gleichgewicht halten, schließt sich das elasti-

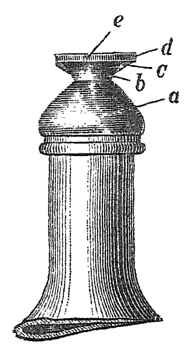
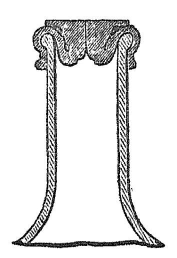


Fig. 1.


Fig. 2.

sche Ventil. Wie sich der Verschluß nach Entfernung der Wärmequelle, bezw. nach erfolgter Abkühlung verhält, geht aus Fig. 2 hervor. Dieselbe stellt den Flaschenhals mit aufgestülpter Gummikappe nach dem Kochen des Gefäßinhaltes und erfolgter Abkühlung dar. Durch Verdichtung des Wasserdampfes entsteht in der Flasche ein Vakuum und infolgedessen drückt die atmosphärische Luft den plattenförmigen Teil des Verschlusses mit großer Kraft gegen den Flaschenhals. Der mittlere konische Teil des Stopfens wird dadurch nach einwärts gestülpt. Die am Oberteile seitlich und quer zum Ventilschlitze angebrachten Verdickungen (Fig. 1 *c*) pressen das Ventil fest zusammen und bewirken, daß das Ventil auch nach 100-maligem Gebrauch dieses Verschlusses nicht schlaff und undicht wird.

Diese Stopfen sind nun in bequemer Weise für Reagenzgläser von ungefähr 15—20 mm Weite zu verwenden. Sofort nach dem Beschicken der mit einem Wattestopfen versehenen Röhrchen wird derselbe in die Mündung hineingestoßen, der Gummiverschluß aufgesetzt (welcher nun bis zur Verwendung des betreffenden Nährbodens

nicht entfernt zu werden braucht) und das Ganze sterilisiert. Die Vorteile dieses Verfahrens sind leicht einzusehen. Der von der Gummikappe bedeckte Raum ist sowohl nach einmaliger andauernder wie auch nach diskontinuierlicher Sterilisation sicher keimfrei. Die Verwendung von Sublimat kommt bei dem genannten Verschlusse in Wegfall und somit auch die Verunreinigung von Kulturen und Gefässen, insbesondere das Springen beim Erhitzen derselben. Von Wichtigkeit ist es, solche Reagenzgläser auszusuchen, bei denen der Rand der Oeffnung nicht zu unregelmäßig geformt ist. Bei unregelmäßiger Form des Reagenzglasrandes kann es mitunter vorkommen, daß beim Abkühlen der eine und andere Stopfen sich nicht ordentlich einzieht und seine ursprüngliche Lage beibehält. In diesem Falle hat sich die Druckdifferenz durch Einströmen von atmosphärischer Luft wieder ausgeglichen, doch schließen auch dann die Stopfen noch so gut, daß eine wesentliche Wasserverdunstung nicht zu befürchten ist. Selbstverständlich wird man solche Gläschen zunächst, und erst später die tadellos verschlossenen in Gebrauch nehmen. Niemals konnten wir hingegen beobachten, daß die letzteren den hohen Außendruck nicht ausgehalten hätten. Wir bedienen uns seit 2 Jahren der erwähnten Verschlüsse und empfinden deren Vorteile bei Spezialnährböden, die nur ausnahmsweise gebraucht werden, aber immer vorrätig sein sollen, in besonderem Maße.

Nach einer anderen Richtung hin sind uns die erwähnten Verschlüsse geradezu unentbehrlich geworden, nämlich da, wo es sich um die Aufbewahrung und periodische Verwendung von Salzlösungen und dergl. von konstanter Zusammensetzung handelt. In diesem Falle treten die Vorteile, die oben für die mit Nährsubstrat beschickten Reagenzröhren hervorgehoben wurden, ganz besonders hervor. Denn einerseits wird man es, wenn immer möglich vermeiden, Gefäße, in denen z. B. Nährlösungen für sehr empfindliche Organismen aufbewahrt werden, wiederholt mit Sublimat in Berührung zu bringen; andererseits muß man der in kurzer Zeit eintretenden Volumverminderung in irgend einer Weise entgegenzutreten suchen. Der beschriebene Patentverschluß trägt aus angeführten Gründen beiden Forderungen in weitgehendster Weise Rechnung.

Die Verschlüsse werden von Carl Gerhardt, Lager chemischer Utensilien in Bonn, geliefert.

18. Juni 1895.

Original-Referate aus bakteriologischen und gärungsphysiologischen Instituten, Laboratorien etc.

Sind die Hefen Frohberg und Saaz der Berliner Brauerei-Versuchsstation Hefetypen im physiologischen Sinne?

[Mitteilungen aus der vom kgl. bayer. Staate subv. Versuchsstation für Bierbrauerei zu Nürnberg.]

Von

Dr. E. Prior.

Mit 1 Figur.

In der vorläufigen Mitteilung [1]) über obigen Gegenstand habe ich die eingehende Beschreibung sämtlicher Versuche, welche mich zur Aufstellung der am Schlusse meiner Mitteilung niedergelegten Thesen veranlaßten, sowie die nähere Begründung der letzteren in Aussicht gestellt.

Ich komme diesem Versprechen hiermit nach und schicke voraus, daß ich durch die wiederholten vorzeitigen Angriffe von Bau [2]) und Munsche [3]), welche ich teilweise schon zurückgewiesen habe [4]), gezwungen bin, weiter auszuholen, als dies anfangs meine Absicht gewesen ist, damit in der Folge Mißverständnisse nicht mehr Platz greifen können und die insbesondere von Bau in unqualifizierbarer Weise geführte Diskussion wieder in die in der wissenschaftlichen Welt üblichen Bahnen geleitet wird.

Der Grund, warum die ausführlichen Mitteilungen nicht schon früher erschienen sind, ist, weil mich die erfolgten Angriffe veranlaßten, noch einige weitere Versuche über die Wirksamkeit der Enzyme von Hefe Saaz, den Einfluß der flüchtigen Gärungsprodukte und die Umstände, welche die Erreichung des Bau'schen absoluten Endvergärungsgrades beeinflussen, anzustellen. Die Resultate gebe ich ebenfalls in dieser Abhandlung bekannt.

Der Punkt, welcher das eigentliche Angriffsobjekt für Bau und Munsche bildete, betrifft den Endvergärungsgrad der von mir bei meinen Versuchen benutzten vergorenen Würze, wie er bei Vergärung derselben mit den Hefen Saaz und Frohberg bei 25 ° C im Thermostaten erhalten wird, bezw. die Frage, ob ich den Endvergärungsgrad im Sinne der Berliner Versuchsstation erreicht habe oder nicht.

Die für diese Frage maßgebende Definition des sogenannten Endvergärungsgrades wurde in der unter Delbrück's Leitung durchgeführten Arbeit von Irmisch [5]) vor etwa 4 Jahren gegeben.

1) Centralbl. f. Bakt. u. Par. 2. Abt. Bd. I. p. 432.
2) Wochenschr. f. Brauerei. 1895. p. 431 u. 549.
3) Ibid. p. 436.
4) Bayer. Brauerjournal. Bd. V. p. 229.
5) Wochenschr. f. Brauerei. 1891. p. 1135 u. f.

Diese sehr ausführliche, höchst beachtenswerte Arbeit „über den Vergärungsgrad, zugleich Studien über zwei Hefecharaktere“ lehrt uns eine Kulturhefe kennen, welche sich von den bislang bekannten Kulturhefen dadurch unterscheidet, daß sie die nämliche Würze unter den verschiedensten Bedingungen nicht so weit vergärt, als die meisten Kulturhefen. Bei Vergärung von Würzen in der Praxis hatte man schon lange die Beobachtung gemacht, daß es Brauereihefen giebt, welche sich dadurch von einander unterscheiden, daß sie die Würze in der Hauptgärung verschieden hoch vergären. Durch die epochemachenden Untersuchungen Hansen's wurde diese Erscheinung aufgeklärt; Hansen zeigte, daß es verschiedene Hefenarten oder -rassen giebt, welche sich, von anderem abgesehen, auch durch die Höhe des Vergärungsgrades nach beendigter Hauptgärung in einer Würze von gleicher Zusammensetzung unterscheiden.

Insofern sind die Delbrück-Irmisch'schen Versuche also nichts Anderes als die Bestätigung der Hansen'schen Lehren. Indessen wurde durch die genannten Versuche als neu konstatiert, daß es auch Hefen giebt, welche unter günstigeren Gärungsbedingungen, als diejenigen bei der Hauptgärung sind, nämlich bei hohen Temperaturen, kräftiger Ernährung u. s. w. die Würze nicht so weit zu vergären vermögen, als die meisten der gebräuchlichsten Kulturhefen. Der Seltenheit im Vorkommen dieser Hefen muß es wohl zugeschrieben werden, daß diese Thatsache bis dahin unbekannt war.

Eine solche Hefe aufgefunden und dieselbe in ihren Gärwirkungen im Vergleiche mit einer bewährten Kulturhefe näher erforscht zu haben, ist das Resultat der verdienstvollen Arbeit von Delbrück-Irmisch. Die nieder vergärende Hefe wurde „Saaz“, die hoch vergärende „Frohberg“ genannt und mit diesen beiden Hefen die Frage studiert: „Welche Einflüsse den Vergärungsgrad überhaupt und insbesondere bei ihnen zu verändern imstande sind und namentlich, ob und wodurch man vermöchte, die Hefe Saaz zu höherer Vergärung zu bringen.“

Ueber die Bedingungen, unter welchen die Versuche unternommen wurden, sagt Irmisch: „Bezüglich der allgemeinen Versuchsbedingungen sei ferner erwähnt, daß die Gärung fast stets, wenn nicht andere besondere Gründe vorlagen, dann „abgebrochen“ wurde, wenn der Kohlensäureverlust, von der letzten Wägung ab gerechnet, entweder gleich Null oder doch so gering war, daß er auf die Saccharometeranzeige des Bieres einen Einfluß nicht mehr ausübte (also etwa = 0,1, 0,2—0,3 g). Das durch Abfiltrieren von der Hefe befreite Bier wurde durch Schütteln und abermaliges Filtrieren vom Schaum — durch ein Faltenfilter — entkohlensäuert und dann mit dem Saccharometer gespindelt. Aus der Saccharometeranzeige wurde meistens der scheinbare Vergärungsgrad berechnet. Wir haben unter diesem nach unseren Versuchen, da — wie eben erwähnt — **der Verlauf der Gärung in den Gärflaschen bis ganz zu Ende** abgewartet wurde, den **überhaupt erreichbaren Endvergärungsgrad** zu verstehen, d. h. den Vergärungsgrad, welcher dem fertigen, der Nachgärung auf dem Lagerfasse unterworfen gewesenen

Biere entspricht, nicht den Vergärungsgrad des Bieres, mit dem es nach der Hauptgärung vom Botticke kommt."

Ich hebe ausdrücklich hervor, daß Irmisch nach dieser Erläuterung die Gärungen in der Regel **erst dann abgebrochen hat**, wenn sie **beendigt** waren, daß somit das Wort „abgebrochen" von Irmisch nicht in dem Sinne gebraucht wurde, als ob die Gärungen vorzeitig, das heißt bevor der **„überhaupt erreichbare Endvergärungsgrad"** konstatiert worden war, abgebrochen worden seien.

Die Definition des überhaupt erreichbaren Endvergärungsgrades ist so klar, daß dieselbe keinen Zweifel zuläßt. Dieselbe ist, soweit sie den Vergleich mit dem gelagerten Biere anlangt, aber nur bedingungsweise richtig, da bekanntlich viele Biere in den Konsum gelangen, welche den „überhaupt erreichbaren Endvergärungsgrad", wie ihn Delbrück-Irmisch definieren, noch lange nicht erreicht haben.

Die Methode, welche Delbrück-Irmisch anwandten, um die völlige Vergärbarkeit der Würzen zu konstatieren, beruht auf der durchaus richtigen Grundlage, einen bei der Gärung auftretenden, für dieselbe charakteristischen, leicht mit Sicherheit bestimmbaren Bestandteil, die Kohlensäure, zu ermitteln und den Versuch als beendet **„abzubrechen"**, wenn keine Kohlensäure mehr entwickelt wird.

Die der betreffenden Würze zugefügte Hefe hat damit die Arbeitsleistung vollbracht, welche sie, ohne Rücksicht auf die Zeit, unter den gewählten Bedingungen überhaupt zu vollbringen imstande war.

Nicht unerwähnt will ich lassen, daß bis in die jüngste Zeit an der Berliner Station die von Irmisch vor 4 Jahren beschriebene Methode der Prüfung auf den „überhaupt erreichbaren Endvergärungsgrad" durch Bestimmung des Kohlensäureverlustes gebräuchlich ist, denn Munsche[1]) wandte dieselbe noch bei seinen Versuchen über den Einfluß verschiedener Maischtemperaturen auf die Bildung von Isomaltose etc. an.

Nachdem die bei der Gärung gebildete Kohlensäure ein Spaltungsprodukt des Zuckers ist, versteht es sich von selbst, daß die Gärung auch dann beendet ist, d. h. „der überhaupt erreichbare Endvergärungsgrad" erzielt worden ist, wenn der Zuckergehalt der Würze bei zwei aufeinanderfolgenden Bestimmungen innerhalb eines genügenden Zeitraumes keine Abnahme mehr erfährt.

Dieses zwar etwas umständlichere Verfahren wende ich seit Jahren bei meinen gärungsphysiologischen Arbeiten an, und zwar deshalb, weil dasselbe genauer ist und, wenn es sich um die Vergärbarkeit der Würzezucker handelt, gleichzeitig darüber Aufschluß giebt, wieviel Zucker von der betreffenden Hefe unter den eingehaltenen Bedingungen innerhalb einer gewissen Zeit vergoren wurde.

Ich habe mich durch viele Versuche überzeugt, daß man den überhaupt erreichbaren Endvergärungsgrad einer Würze

1) Wochenschr. 1894. p. 1372.

im Thermostaten bei 25° C innerhalb 6 Tagen erzielt, wenn 100—150 cm Würze mit einer geringen Menge Hefe geimpft werden, nämlich mit soviel Hefe, als an einem dünnen Glasstabe haften bleibt, wenn derselbe in die auf dem Boden eines kleinen Kölbchens nach dem Abziehen des überstehenden Bieres zurückgebliebene, vorher während 24 Stunden aufgefrischte Hefekultur eingetaucht wird.

Daß die Gärung auch dem Aeußeren nach innerhalb 6 Tagen beendet ist, erkennt man an dem vollständigen Absitzen der Hefe, der Klarheit der überstehenden Würze, sowie daran, daß keine Spur Kohlensäureentwickelung, auch nicht mehr beim Schütteln des Gärkölbchens, wahrnehmbar ist.

Insbesondere bei der zu den nachfolgenden Versuchen verwendeten Würze, meiner Versuchswürze, wurde konstatiert, daß der Zuckergehalt der Würze nach der Gärung bei 25° C im Thermostaten nach Verlauf von 11 Tagen derselbe geblieben ist, wie er nach sechstägiger Gärdauer gefunden worden war.

Die Versuchswürze war also bis auf den nach Delbrück-Irmisch überhaupt erreichbaren Endvergärungsgrad vergoren.

Zu demselben Ergebnisse gelangte kürzlich auch Krieger[1]), welcher mitteilt, daß die Gärung bei 25° C nach Verlauf von 6 Tagen anscheinend beendet war und bei Bestimmung des Maltosegehaltes der vergorenen Würze nach Verlauf von 6, 11 und 46 Tagen eine die Fehlergrenze überschreitende Zuckerabnahme nicht nachweisen konnte.

Da bei exakter Durchführung das auf Feststellung der Kohlensäureverluste beruhende Verfahren Irmisch-Delbrück mit dem von mir angewandten, auf Bestimmung der Zuckerverluste beruhenden im Prinzipe gleich ist, müssen beide auch übereinstimmende Resultate über den Verlauf der Gärung ergeben, bezw. übereinstimmend erkennen lassen, ob der „überhaupt erreichbare Endvergärungsgrad“ thatsächlich erreicht worden ist oder nicht.

Abweichend von dieser Methode ermittelt Bau den Endvergärungsgrad. Nach der neuesten Publikation von Bau[2]) wird **nach ihm** auf den Endvergärungsgrad in der Weise geprüft, „daß man die anscheinend vollständig vergorene Flüssigkeit aufs neue sterilisiert, mit der Analysenhefe impft und weiter im Thermostaten beobachtet. Die Beobachtungsdauer kann sich über drei Tage oder über eine längere Zeit erstrecken und wird durch eine quantitative Analyse abgeschlossen. Das Sterilisieren erfolgt bei 100° C entweder in der filtrierten Flüssigkeit direkt oder nach dem Entgeisten, Eindampfen, Zusatz von Wasser oder Hefenährstoffen. Bei dieser Operation hat man quantitativ zu arbeiten. Wenn die Kontrolle ergiebt, daß in der vergorenen Flüssigkeit gärfähige Substanzen nicht mehr vorhanden waren, ist der Beweis erbracht, daß in der

1) Der amerikanische Bierbrauer. 1895. No. 6. p. 304.
2) Wochenschr. f. Brauerei. 1895. p. 449.

ursprünglichen Lösung der absolute oder Endvergärungsgrad erreicht war."

Nun erleidet aber jede vergorene Würze beim Sterilisieren, auch wenn dasselbe bei 100° C erfolgte, Aenderungen in der Zusammensetzung, was in noch höherem Maße der Fall ist, wenn die Würze, wie Bau vorschreibt, entgeistet, d. h. von Alkohol und einem Teile der flüchtigen Gärungsprodukte befreit und mit neuen Hefenährstoffen versetzt wird.

Die von Bau aufs neue zur Gärung angestellte Würze ist daher auf keinen Fall dieselbe, die sie vorher war. Aber auch die zur Prüfung dienende Hefe ist eine andere, wenn auch von derselben Rasse, da sich dieselbe in einem anderen Vegetationszustande befindet, als die ursprünglich von Bau zur Würzevergärung benutzte nach der Gärung.

Es ist daher für die Erreichung des Endvergärungsgrades nicht beweisend, wenn nach diesen tief eingreifenden Aenderungen in den Versuchsbedingungen — andere Nährflüssigkeit, veränderter Vegetationszustand der Hefe — eine erneute Gärung eintritt und die vorher anscheinend vergorene Flüssigkeit wieder Gärungserscheinungen zeigt. Ja, unter Umständen wird sich ein und dieselbe bis zum erreichbaren Endvergärungsgrad (Delbrück, Irmisch, Munsche) vergorene Würze, je nachdem sie entweder direkt oder erst nach dem Entgeisten, Eindampfen, Zusatz von Wasser oder Hefenährstoffen (!) sterilisiert worden ist, verschieden verhalten, d. h. das eine Mal wird Gärung eintreten, das andere Mal nicht.

Daß in vollständig bis zum überhaupt erreichbaren Endvergärungsgrade vergorene Würze nach dem Entgeisten und vollkommener Abfuhr der flüchtigen Gärungsprodukte aufs neue Gärung eintrat, beweist folgender Versuch: 400 cm mit Hefe Saaz bis zu dem überhaupt erreichbaren Endvergärungsgrade vergorene Versuchswürze wurden auf dem Wasserbade auf 125 cm eingedampft, alsdann quantitativ in den Vakuum-Destillierapparat gebracht und der Rest der flüchtigen Gärungsprodukte abdestilliert. Zu diesem Behufe wurde der Rückstand während 2 Tagen unter fortwährendem langsamen Zuflusse von 800 cm Wasser zur vollständigen Abfuhr der letzten Reste flüchtiger Produkte bei 50° C weiter destilliert und alsdann quantitativ auf 150 cm gebracht.

100 cm enthielten 5,348 g Rohmaltose. Nach Delbrück, Munsche u. A. konnte neben Dextrin nur noch durch Hefe Saaz unvergärbare Isomaltose, bezw. β-Isomaltose vorhanden sein.

Die Flüssigkeit wurde mit ca. 2 g vorher aufgefrischter Hefe Saaz geimpft und im Thermostaten zur Gärung angestellt. Erst nach 4 Tagen machte sich eine äußerst schwache Kohlensäureentwickelung bemerkbar; am 5. Tage war dieselbe deutlicher und hielt vom 6. bis 8. Tage an. Von da nahm die Gärung wieder ab; dieselbe schien am 9. Tage beendet, doch ließ man die Flüssigkeit noch weitere 3 Tage im Thermostaten stehen.

Die Analyse ergab, daß 19,37 Proz. β-Isomaltose durch Hefe Saaz vergoren waren.

Dieser Versuch lehrt, nachdem hierzu die vergorene, selbstver-

ständlich auf den überhaupt erreichbaren Endvergärungsgrad vorher kontrollierte Versuchswürze (dieselbe war 11 Tage im Thermostaten gestanden) gedient hatte, daß dieselbe nach vollständiger Entfernung der flüchtigen Gärungsprodukte, was bekanntlich durch teilweises Abdampfen der vergorenen Flüssigkeit, wie Bau vorschreibt, auf dem Wasserbade nicht gelingt (siehe meine diesbezüglichen Arbeiten: Bayer. Brauerjournal. Bd. II. p. 362 u. f.; auch Biourge, Recherches sur la fermentation Alcoolique, Extrait de la Revue „La Cellule" t. XI. 1er fascicule; auch Brauerjournal. Bd. V. p. 289), aufs neue durch Hefe Saaz nicht unbeträchtlich vergoren wurde.

Der verhältnismäßig recht einfache Versuch zeigt, daß, wenn man, wie Bau vorschreibt, die Beobachtung der vergorenen sterilisierten, mit einer frischen Hefekultur geimpften, mit Hefenährstoffen nochmals versetzten Würze im Thermostaten „über längere Zeit" fortsetzt, Inversionen der Zucker, d. h. Umwandlung des bislang unvergoren gebliebenen Isomaltoserestes in leicht vergärbare Zucker stattfinden. Da solche Inversionen schon bei tiefen Temperaturen beobachtet wurden — Lintner hat im Münchener Lagerbiere Glukose mit Sicherheit nachgewiesen —, ist mit Bestimmtheit anzunehmen, daß dies für die von Bau vorgeschriebene Beobachtungstemperatur von 25° C in noch höherem Maße zutrifft und auch bei dem mitgeteilten Versuche der Fall war.

Es ist deshalb auch nicht unmöglich, daß die große Gärungsenergie (großes Durchlässigkeitsvermögen) besitzende Hefe Frohberg die Isomaltose einer Würze vollständig vergärt, wie Bau angiebt, wenn man nämlich die Gärung nach Bau mit neuen Kulturen unter seinen Bedingungen weiterführt.

Auch die von Doemens[1]) im vergangenen Jahre publizierten Versuche über die Vergärbarkeit des Extraktes einiger Münchener Biere durch die Hefen Saaz und Frohberg, deren Richtigkeit Munsche bestätigt hat, sind für die Umwandlung der Isomaltose in leicht vergärbare Zucker im Lagerbiere beweisend. Doemens fand, daß der Unterschied im Vergärungsgrade des Bierextraktes unter den Berliner Bedingungen bei 25° C zwischen den Hefen Frohberg und Saaz nur 1,5—3,1 Proz. betrug — mithin innerhalb der Fehlergrenzen der Delbrück-Irmisch'schen Versuche liegt —, während derselbe beim ursprünglichen Würzeextrakte in der Regel ca. 10 Proz. beträgt.

Die Methode von Bau ist zur Prüfung einer vergorenen Würze auf den Endvergärungsgrad aus den angeführten Gründen nicht zu verwenden, weil schließlich noch Zucker vergoren wird, der in der ursprünglichen Würze nicht, bezw. als andere Zuckerart enthalten gewesen ist.

Der „absolute Endvergärungsgrad" Bau's und der „überhaupt erreichbare Endvergärungsgrad", wie denselben Delbrück, Irmisch, Munsche u. A. bestimmen, können wohl übereinstimmen, müssen und werden aber nur in seltenen Fällen wirkliche Uebereinstimmung aufweisen.

---

1) Allgem. Anzeiger f. Brauereien. 1894. No. 50.

Der „absolute Endvergärungsgrad“ nach Bau ist ein wechselnder, während der „überhaupt erreichbare Endvergärungsgrad“ nach Delbrück, Irmisch, Munsche für dieselbe Würze ein konstanter ist, wenn der Versuch sofort nach beendeter Gärung abgebrochen wird.

Die Würze, die sogenannte Versuchswürze, welche ich in den nachstehend beschriebenen Versuchen stets anwandte, wenn nicht ausdrücklich erwähnt wurde, daß dies nicht der Fall war, lieferte bei der Vergärung mit den Hefen Frohberg und Saaz bis zum „überhaupt erreichbaren Endvergärungsgrad“, wie ihn Delbrück-Irmisch definieren, nach der Reduktionsmethode folgendes Resultat:

	Unvergorene Würze	Mit Hefe Frohberg verg.	Mit Hefe Saaz vergoren
Rohmaltose in 100 cm	8,944 g	1,074 g	1,958 g
Rohmaltose vergoren pro 100 cm	0,000 „	7,870 „	6,986 „
Im Extrakt Rohmaltoseprozente .	64,35 Proz.	7,73 Proz.	14,04 Proz.
Vom Extrakt Rohmaltoseprozente vergoren	0,00 „	56,62 „	50,31 „
Von 100 Teilen Rohmaltose sind vergoren	0,00 „	87,99 „	78,18 „

Die Differenz im Gehalte an unvergorener Rohmaltose zwischen den beiden Hefen Frohberg und Saaz nach Erreichung des Berliner-Bau'schen Endvergärungsgrades beträgt somit:

a) in 100 cm: 7,870 — 6,986 = 0,884 g;
b) in 100 Gewichtsteilen Würzeextrakt: 56,62 — 50,31 = 6,31 Proz.
c) in 100 Gewichtsteilen Rohmaltose: 87,99 — 78,18 = 9,81 Proz.;

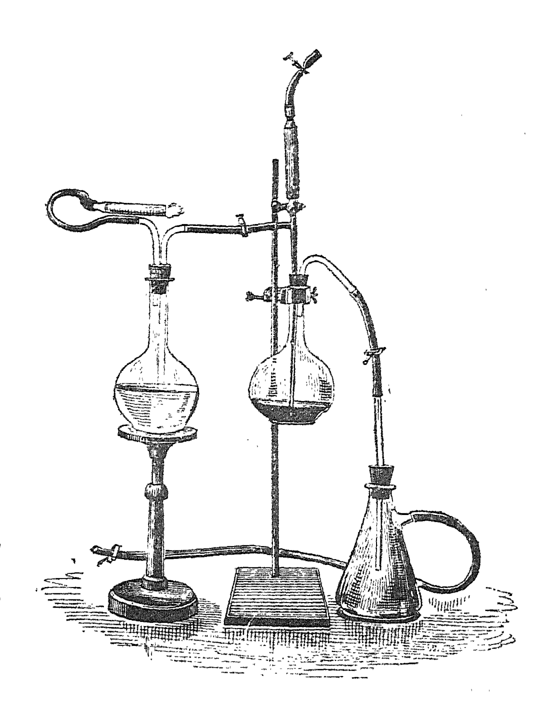
Diese Zahlen geben die Menge der (unter den Berliner Bedingungen) unvergärbaren Isomaltose oder die β-Isomaltose Bau's an, welche in der Versuchswürze enthalten ist.

Die vollständige Vergärung der Würzezucker.

In meiner vorläufigen Mitteilung habe ich gesagt, daß die Vergärung der Zucker sowohl durch Hefe Frohberg als auch durch Hefe Saaz gelingt, wenn die Würze mit sehr viel Hefe versetzt (100 cm Würze und ca. 20 g abgepreßte Hefe) und die Gärung bei 31—33° C in einem lebhaften Luftstrome unter gleichzeitiger Herstellung eines Vakuums in der Weise geführt wird, daß die flüchtigen Gärungsprodukte (Kohlensäure, Alkohol, flüchtige Säuren etc.) stets überdestillieren und eine stetige Konzentration der gärenden Flüssigkeit stattfindet, welche so zu regeln ist, daß während der 6—7 Tage andauernden Gärung alle 12 Stunden etwa die Hälfte der Flüssigkeit überdestilliert, welche jedesmal durch steriles Wasser wieder ersetzt werden muß.

Die Versuche wurden in folgender Weise angestellt: In einem sterilen, mit doppelt durchbohrtem Gummistopfen versehenen Kolben (siehe die nebenstehende Abbildung) von ca. 500 cm Inhalt wurden 100 cm Versuchswürze und ca. 20 g feuchte, zwischen Filtrierpapier abgepreßte Hefe innig gemischt. Zum Filtrieren der Luft diente ein 25 cm langes, 2 cm weites, mit Baumwolle gestopftes Metallfilter,

das auf eine kurze Metallhülse luftdicht aufgeschraubt wird und an seinem oberen Ende in ein 1 cm weites Metallrohr von 4 cm Länge ausmündet. An dem unteren Teile des Filters, bezw. der kurzen Metallhülse, befindet sich ein Hahn zum Absperren der Luft und darunter ein 4—5 cm langes, etwa 1 cm weites Ansatzröhrchen, in welches ein längeres Zinnrohr eingelötet ist. Die Ansatzröhre ist mit einem kurzen, seitlichen Rohransatze versehen. Das sterile Filter wird mit dem Zinnrohre, welches die Lüftung der Würze zu besorgen hat, in die eine Bohrung des Gummistopfens bis fast auf den Boden des Kolbens eingesetzt und das seitliche Ansatzrohr mit dem bis auf den Boden dieses Kolbens reichenden Wasserzuflußrohre eines steriles Wasser enthaltenden Kolbens vermittelst eines dickwandigen Gummischlauchs, der mit Quetschhahn versehen ist, verbunden, um nach Belieben den Wasserzufluß regulieren oder ganz abstellen zu können.



(Fortsetzung folgt.)

Referate.

Kruis, K. und Rayman, B., Chemisch-biologische Studien [1]). Teil II. Mit 3 Tafeln. (Bull. internat. Acad. scienc. de l'empereur François Joseph. Cl. scienc. mathemat. natur. I. Sonderabdruck.) Prague 1894.

Verff. suchten in diesem Teile ihrer Untersuchungen die Frage zu lösen, ob die Verunreinigungen des industriellen Alkohols (Acetaldehyd, die höheren Alkohole, Furfurol) ein Produkt der Gärthätigkeit der Hefe oder vielmehr ein Produkt der chemischen

1) Vergl. Centralbl. f. Bakteriol. u. Parasitenk. Bd. XII. 1892. S. 150.

Wirkung von anderen Organismen, welche niemals in der Maische fehlen, sind.

Zunächst wurden die Produkte der Säuerung bei der Milchsäuregärung an Reinkulturen des Milchsäurefermentes studiert. Die Reinzüchtung gelang nur auf Grünmalzextrakt, der durch Verzuckerung bei 65° C erhalten wurde.

Bierwürze, welche in Milchsäuregärung bei 30° C versetzt war, lieferte nach 17 Tagen bei der Destillation außer den Säuren Aethylalkohol. Aceton wurde nicht gefunden. Von flüchtigen Säuren konnte Ameisensäure und Essigsäure nachgewiesen werden. Neben der Ameisensäure wurden mit Benzaldehyd und schwefliger Säure Krystalle erhalten, welche zum Verwechseln den Benzylidenverbindungen des Mannits und des Sorbits, dargestellt nach der Methode von Meunier, ähnlich sind. Verff. behandeln dann noch weiter die Frage, ob die höheren Alkokole sich im Verlauf der Gärungen mit Reinkulturen von Saccharomyces-Arten bilden können. Außerdem wurde auch eine Mycoderma-Art in dieser Richtung untersucht.

Die mit 3 Rassen von Brennereihefe angestellten Versuche, deren Resultate auf synoptischen Tafeln dargestellt sind, ergaben, daß die Kulturhefen, die in der Brennerei angewendet werden, die Fähigkeit besitzen, für sich selbst unter gegebenen Bedingungen und ohne Mitwirkung von Bakterien Amylalkohol (das Fuselöl) zu bilden. Sie erzeugen in gewissen Fällen eine mehr oder minder große Menge von Acetaldehyd, und selbst Furfurol gehört zu den Produkten ihrer Gärthätigkeit. Weder die höheren Alkohole noch das Acetaldehyd sind unumgänglich notwendige Produkte der Gärung der Brennereihefen.

Der Acetaldehyd bildet sich am leichtesten; er bildet sich in bemerkenswertem Maße unter der Einwirkung von Brennereihefe in Würze, wenn die Oberfläche der vergorenen Würze von einer Kahmhaut bedeckt wird. Die Bierhefen haben unter diesen Umständen ganz unbestimmbare Spuren von Acetaldehyd gegeben. In zwei Fällen wurden erstaunliche Mengen von Acetaldehyd durch Mycoderma B und durch Brennereihefe bei Zutritt von Luft erzeugt, als eine Würze zuvor in Milchsäuregärung versetzt wurde, und nachdem sich inzwischen eine Kahmhaut gebildet hatte. Alle diese Umstände stützen die Hypothese, daß der Acetaldehyd sich durch Oxydation des Aethylalkohols im Entstehungszustande bildet.

Das Furfurol erschien unter den Gärungsprodukten der Brennereihefen nur dann, wenn Acetaldehyd in ziemlich beträchtlicher Menge vorhanden war. Die Bierhefen erzeugten außer einer Spur Acetaldehyd ein ganz klein wenig Furfurol. Mycoderma D, welches wenig Acetaldehyd erzeugte, gab auch Furfurol, während Mycoderma C, welches gor, während die Haut schon gebildet war, eine sehr große Menge von Acetaldehyd gab, aber kein Furfurol.

In den mitgeteilten 13 Versuchsreihen erzeugten die Brennereihefen Amylalkohol (das Fuselöl) nur achtmal, während derselbe in fünf Versuchsreihen nicht gefunden wurde.

Die angestellten Versuche sind ungenügend, um festzustellen, unter welchen Bedingungen die höheren Alkohole von Reinkulturen der Saccharomyceten gebildet werden.

(Aus den genauen Angaben der Verff. über die Herkunft und die Behandlung des Aussaatmaterials, welches sie bei ihren Versuchen mit Hefe verwendeten, läßt sich mit Sicherheit schließen, daß sie in vielen Fällen die Würze nicht mit der reinen Alkoholgärungsform vergoren hatten, sondern daß sich unter ihren Hefen auch noch Nachkömmlinge der Kahmhautgenerationen befunden haben. Inwieweit sich aber beide Generationen an der Erzeugung der gefundenen Gärungsprodukte beteiligen, das ist eine Frage, die noch der Lösung harrt. D. Ref.). H. Will (München).

Schönfeld, F., Ueber die Gärungs- und Nachgärungsverhältnisse mit besonderer Berücksichtigung des thatsächlichen Auftretens von Infektion in den obergärigen Brauereien Nord- und Mitteldeutschlands. (Wochenschr. f. Brauerei. Bd. XII. 1895. p. 546—549.)

Verf. bespricht zunächst die auf einer Studienreise gesammelten Erfahrungen in obergärigen Brauereien des bezeichneten Gebietes in Bezug auf Mälzerei, Sudverfahren, Extraktgehalt der Biere und Gärführung und giebt sodann über die Hefe Folgendes an: Bei Bottichgärung wird meist die Oberhefe (Deckenhefe) allein als Anstellhefe ohne Abwässern weiter benutzt, während die Unterhefe (soll heißen Bodenhefe, d. Ref.) nicht verwendet wird. In seltenen Fällen werden auch beide gemischt. Bei der Faßgärung gebraucht man im allgemeinen Decken- und Bodenhefe zugleich, doch wurde auch die ausschließliche Anwendung der letzteren beobachtet. Die Einführung von Reinhefen war nur in sehr wenigen Fällen zu verzeichnen. Infolge des schwachen Alkoholgehaltes sind die obergärigen Biere wenig gegen Infektion widerstandsfähig, doch war über diesen Punkt in Bezug auf Infektion durch wilde Hefen bisher nichts bekannt. Verf. untersuchte daher nach der Lindner'schen Methode (Strichkulturen in der Hohlkammer) Hefen und Biere von 9 Brauereien und fand in einer Brauerei sehr viel Kahmhefe, sonst nur äußerst selten wilde Hefe. In vereinzelten Fällen waren 1—2 Proz. wilder Hefe vorhanden, in mehreren Betrieben dagegen die Biere im Lagerfasse und in der Flasche, sowie auch das Geläger absolut frei von wilder Hefe. Schließlich wurden in zwei Berliner Weißbierbrauereien Biere und Hefen untersucht und hier ebenfalls nur selten das Auftreten wilder Hefe konstatiert.

Verf. spricht daher der wilden Hefe bei der Gärung und Nachgärung in obergärigen Betrieben jede Bedeutung ab. Eine Erklärung für den günstigen Befund ist jedenfalls in der bei hohen Temperaturen geführten Gärung gegeben, welche ein Aufkommen der wilden Hefe bei Gegenwart von viel Kulturhefe verhindern. Eine Gefahr droht dem obergärigen Biere nicht durch wilde Hefen, sondern mehr durch Bakterien.

Die Einführung reingezüchteter Hefen von speziellen Eigenschaften, z. B. solcher Rassen, die ein festes Absetzen der Bodenhefe auf den Flaschen bedingen, könnte der obergärigen Bauerei nicht unwesentliche Vorteile bringen.

Anm. des Ref. In außerdeutschen Brauereien, besonders in

holländischen Großbetrieben, ist die Hefereinzucht mit bestem Erfolge seit Jahren eingeführt, so vor allem durch Grimmer bei Baartz en Zoon in Rotterdam, durch den Ref. in einer Rotterdamer und einer Amsterdamer Brauerei. Allerdings sind die Ansprüche, die in Holland an obergäriges Bier gestellt werden, bedeutend höhere, als in Deutschland. Man verlangt dort glanzfeines Bier, ohne Bodensatz in der Flasche und lange Haltbarkeit. Außerdem wird viel obergäriges Bier direkt vom Fasse verschänkt, selbst Stout (z. B. seitens der Delibrouwerij in Amsterdam). Um dies zu erreichen, ist besonders die Nachgärung mehr dem untergärigen Betriebe (lange und kalte Lagerungen) angepaßt. Die aus Holland stammenden günstigen Erfahrungen mit obergäriger Hefereinzucht lassen in Uebereinstimmung mit dem Verf. auch auf ein gutes Resultat in Deutschland schließen.

Bau (Bremen).

Fischer, E. und **Lindner, Paul,** Ueber die Enzyme von Schizo-Saccharomyces octosporus und Saccharomyces Marxianus. (Ber. der deutsch. chem. Gesellschaft. Bd. XXVIII. 1895. H. 8.)

Bei der Vergärung der Polysaccharide durch die Saccharomyceten spalten sich anfangs die ersten in die Monosaccharide durch Wirkung besonderer Enzyme. F. hat den Hefen solche invertierende Enzyme entzogen.

Auf die Thatsache gestützt, daß Saccharomyces octosporus (Beyerinck) die Maltose vergärt, nicht aber den Rohrzucker, haben die Autoren vermutet, daß er kein Invertin, sondern nur eine Glukase bereitet.

Diese Vermutung hat sich durch ihre Versuche wohl bestätigt. Die Reinkultur der genannten Hefe wurde mit Wasser gewaschen, auf einer Thonplatte getrocknet, pulverisiert, mit Wasser ausgelaugt. Die geklärte Flüssigkeit invertiert den Rohrzucker nicht, vermag aber reichliche Mengen von Maltose zu zerlegen. Die Isolierung des Enzyms des Saccharomyces octosporus ist den Verff. nicht gelungen.

Sacchar. Marxianus (Hansen) verhält sich umgekehrt wie der vorhergehende. Er bildet ein invertierendes Ferment, spaltet aber die Maltose nicht, was durch das Verhalten des wässerigen Auszuges und der Hefe selbst bestätigt wurde.

A. Wróblewski (Krakau).

Lintner, C. J., und **Kröber, E.,** Zur Kenntnis der Hefeglykase. (Ber. d. deutsch. chem. Ges. Bd. XXVIII. H. 10. N. 15.)

Die Autoren beschäftigten sich mit der Untersuchung der Enzyme. Sie haben nachgewiesen, daß die Hefeglykase ein von dem Invertin und der Maisglykase verschiedenes Enzym darstellt. Schon die vorläufigen Untersuchungen haben gezeigt, daß das Temperaturoptimum für das untersuchte Enzym bei ca. 40° liegt, indem dasselbe für die anderen erwähnten Enzyme zwischen 52—60°, wie bekannt, liegt. Sogar die Temperatur von 55° wirkt, bei längerer Dauer, auf die Hefeglykase tötend.

Aus den weiteren Versuchen wurde ersichtlich, daß die Enzymwirkung nicht proportional der Menge des zugesetzten Enzyms wächst, sondern daß eine „relative Verzögerung“ mit wachsender Enzymmenge eintritt. (Die Verff. haben leider nicht größere Mengen des Enzyms als 4 g Hefe auf 100 ccm Maltoselösung angewendet, sonst könnte man sich überzeugen, ob für die Hefeglukase ebenfalls ein Mengenoptimum existiert, wie es vor kurzem Klug für das Pepsin nachgewiesen hat. Ref.)

Die mit Chloroform angestellten Proben haben eine hemmende Wirkung des Chloroforms ergeben.

Auf Dextrin übt die Hefeglukase keine Wirkung aus.

A. Wróblewski (Krakau).

Reichard, A. und **Riehl, A.**, Zur Kenntnis und Bekämpfung der Sarcinakrankheit. (Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen. XVIII. 1895. No. 8—10.)

In früheren Untersuchungen Reichard's (Studien über einen Sarcinaorganismus im Biere. Zeitschr. f. d. ges. Brauw. 1894. p. 257) über sarcinahaltiges Bier wurde von demselben festgestellt, daß bei mit Sarcina infizierten Bieren bei kräftiger Nachgärung die Krankheit auftritt, während gleich stark infizierte Biere nicht in die Krankheit verfielen, wenn bei der Hauptgärung schon ein hoher Vergärungsgrad erreicht wurde, so daß an Stelle der kräftigen Nachgärung nur noch eine bloße Nachreife eintrat. Reichard erklärte diese Erscheinung dadurch, daß durch das ununterbrochene Aufsteigen von Kohlensäurebläschen während einer kräftigen Nachgärung die Sarcinaorganismen fortwährend mit in die Höhe gerissen werden, wodurch sie Gelegenheit finden, ihr Sauerstoffbedürfnis zu befriedigen, und die auf weitere Generationen erbliche Eigenschaft erlangen, in der Flüssigkeit schwebend zu leben, so daß eine Biertrübung und Geschmacksverschlechterung des Bieres eintritt.

Die Sarcina-Pediokokken, welche nur am Boden des Lagerfasses sich entwickelten, erzeugten weder Biertrübung noch Geschmacksverschlechterung. Es gelang nämlich Reichard, unschädliche Pediokokken durch eine eingeleitete kräftige Nachgärung in krankheitserregende umzuwandeln, so daß das Bier in diesem Falle schleierig getrübt wurde.

Für die Praxis zieht daraus Reichard den bemerkenswerten Schluß, daß das zur Verbesserung des Bieres häufig vorgenommene Aufkräusen desselben bei Bekämpfung der Sarcinakrankheit sehr bedenklich sein dürfte.

In neueren Versuchen prüften Reichard und Riehl das Verhalten von Weinsäure, Salicylsäure und rohem Hopfen gegenüber sarcinakranken Bieren. Hiezu diente ein Bier, welches, sobald es zum Fassen reif war, mit sarcinakrankem Biere infiziert und dann einer kräftigen Nachgärung überlassen wurde. Pro Liter Bier wurden 0,25—1,9 g Weinsäure, 0,14—0,43 g zerschnittener roher Hopfen, 0,1—0,2 g Salicylsäure zugesetzt und ergab sich, daß je nach der Menge der zugesetzten Mittel der Ausbruch der Krankheit mehr oder weniger verzögert wurde.

Für die Praxis ist nur der Zusatz von Hopfen von Bedeutung, dessen Wirkung zum Teil auf die konservierenden Eigenschaften der Hopfenextraktivstoffe an und für sich, zum Teil auf die im Hopfen in geringer Menge enthaltene Diastase zurückzuführen ist, wodurch Isomaltose und Dextrine in vergärbaren Zucker umgewandelt werden, so daß eine erneute Gärung und Hefebildung eintritt. Das Hefewachstum und die unter Druck befindliche, stärker konservierend wirkende Kohlensäure verhindern das Aufsteigen von Kohlensäurebläschen und damit dasjenige der Sarcinaorganismen. An Hopfen sind 30—40 g pro hl erforderlich, um dem Ausbruche der Krankheit vorzubeugen.

In größerem Maßstabe wurde noch folgender Versuch ausgeführt: Nach der Hauptgärung wurde ein Bier mit Sarcina infiziert, Kräusen, welche auf 100 g Extrakt die Extraktstoffe von 2,3 g Hopfen enthielten, zugegeben und das eine Faß A sofort gespundet, während Faß B erst nach 14 Tagen gespundet wurde. Bei Faß A wurde die Sarcinaentwickelung durch die entstehende Hefe und die sich unter Druck ansammelnde Kohlensäure gehemmt. Die Sarcinaklümpchen setzten sich am Boden ab, und der charakteristische Sarcinageschmack hatte eher abgenommen, so daß das Bier A nach der Filtration ohne Anstand zum Konsum hätte gelangen können.

Bier B dagegen verdarb vollständig.

Stellwaag (Weihenstephan).

Stohmann, F., Ueber den Wärmewert der Bestandteile der Nahrungsmittel. (Zeitschr. f. Biologie. Bd. XXXI. 1894. p. 364.)

Zwischen der Ernährung von Tier und Pflanze besteht kein prinzipieller Unterschied. Beide brauchen Zufuhr von mit Energie beladener organischer Substanz, nur wird bei der Pflanze diese organische Substanz aus Kohlensäure und aus dem Boden entnommenen Nährsalzen mit Hilfe des Sonnenlichtes im Chlorophyllapparate erst gebildet; es muß durch die Sonnenstrahlen Energie zugeführt werden.

Da die organische Substanz zum großen Teil dazu dient, den Lebewesen die nötige Energie zuzuführen, so ist die Kenntnis der Verbrennungswärme der Bestandteile der Nahrungsmittel wichtig für das Studium der Ernährungsvorgänge. Berthelot's Bombe für thermochemische Messungen arbeitet für diese Zwecke mit großer Genauigkeit. Eine gewogene Menge des zu untersuchenden Körpers wird in bis zu 25 Atmosphären Druck verdichtetem Sauerstoffe verbrannt und die frei werdende Wärmemenge auf eine gewogene Menge Wasser übertragen. Die so erhaltenen, in Kalorien ausgedrückten Wärmewerte sind nun in dieser Arbeit für die verschiedenen Eiweißstoffe, Fette und Kohlenhydrate tabellarisch zusammengestellt. Die für die letzte Gruppe erhaltenen Zahlen veranlassen Verf. zu Ausführungen, die gärungsphysiologisch von hohem Interesse sind.

Isomere Verbindungen geben nicht identische, aber ähnliche Wärmewerte. Die Differenzen können bei der heutigen hohen Vollkommenheit der Methode nicht mehr wie früher auf Beobachtungsfehler zurückgeführt werden. Diese Abweichungen beruhen zum Teil

auf dem inneren Bau der Moleküle, namentlich aber auf einem geringeren oder höheren Grade von Labilität, wie Verf. zuerst erkannt und nachgewiesen hat. Solche Körper von labilem, molekularem Gleichgewichtszustande können durch den Angriff gewisser Agentien leicht zum Zerfall gebracht oder wenigstens zu inneren Umlagerungen der Atome veranlaßt werden. Der labile Körper besitzt immer einen höheren Wärmewert als der isomere stabile.

Z. B. wird von den beiden Aldosen Glukose und Galaktose Glukose leichter von Fermentorganismen angegriffen, sie ist labiler als die Galaktose. Die Wärmewerte sind:

Glukose 673,7 Kal.
Galaktose 669,9 „

In gleicher Weise ist von den 2 Ketosen Fruktose und Sorbinose die erstere labiler als die letztere.

Fruktose 675,9 Kal.
Sorbinose 668,6 „

Die labile Maleïnsäure geht leicht über in die geometrisch isomere Fumarsäure; die entsprechenden Wärmewerte sind:

Maleïnsäure labil 326,3 Kal.
Fumarsäure stabil 319,7 „

Solche und ähnliche Vorgänge werden als katalytische Erscheinungen bezeichnet.

1) Katalytischen Prozessen unterliegen nur solche Moleküle, deren Atome sich in einer labilen Gleichgewichtslage befinden.
2) Katalytische Prozesse treten nur auf in Gegenwart eines zweiten Körpers, welcher chemisch an dem Prozesse nicht beteiligt zu sein braucht, oder unter Hinzutritt von Energieformen von verschwindend kleiner Größe.

Der beststudierte katalytische Vorgang ist die Alkoholgärung. Dieselbe wird nicht etwa durch die Hefezellen bewirkt, sondern durch ein diesen eigentümliches, aus ihnen jedoch nicht abscheidbares und mit ihrem Leben ebenfalls zu Grunde gehendes Ferment. Ueberhaupt verursachen die Fermentorganismen nicht deshalb Gärung, weil sie Organismen sind, sondern weil sie Träger gewisser Fermente sind. Der Zerfall von Zucker in Alkohol und Kohlensäure bei Gegenwart von Hefezellen ist also im Prinzip ganz analog dem Zerfall von Wasserstoffsuperoxyd in H_2O und O durch Einführung einer Flocke Fibrin. In beiden Fällen wird das labile Gleichgewicht der Atome erschüttert und dadurch Neulagerung derselben verursacht. Nachdem Verf. noch eine Reihe von erläuternden Beispielen angeführt hat, definiert er den Begriff der Katalyse wie folgt:

„Katalyse ist ein Bewegungsvorgang der Atome in Molekülen labiler Körper, welcher durch Hinzutritt einer von einem andern Körper ausgesandten Kraft erfolgt und, unter Verlust von Energie, zur Bildung von stabileren Körpern führt."

Die katalytischen Vorgänge spielen im Leben der organisierten Welt eine ungemein wichtige Rolle. Der Verdauungsvorgang bei den

Tieren ist eine ununterbrochene Folge von katalytischen Prozessen; nicht weniger wichtig sind die katalytischen Vorgänge im Leben der Pflanze. Vielleicht gelingt es, die Entstehung aller organischen Substanz auf katalytische Ursachen zurückzuführen. Burri (Bonn).

Jolles und Winkler, Bakteriologische Studien über Margarin und Margarinprodukte. [Aus dem chemisch-mikroskopischen Laboratorium von Dr. Max Jolles und Dr. Adolf Jolles in Wien.] (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XX. p. 60—108.)

Ausgehend von der Thatsache, daß in der Naturbutter eine außerordentlich große Menge von Keimen (10—20 Millionen in 1 g Butter) enthalten ist, prüften die Verff. das Verhalten der Kunstbutter in dieser Hinsicht.

Die von ihnen gegebene Beschreibung der Herstellung von Margarine zu besprechen, gehört nicht hierher. Die Methode der Untersuchung war die, daß bestimmte Mengen der Margarinproben (0,1—0,5 g) in sterile Erlenmeyer'sche Kölbchen mit je 10 ccm sterilen destillierten Wassers resp. steriler Fleisch-Pepton-Bouillon gebracht wurden, worauf nach Erhitzen des Inhaltes auf 34—35° C derselbe durch kräftiges Schütteln in eine feine Emulsion übergeführt wurde, von welcher mittels steriler Pipetten je $^1/_2$ ccm entnommen und zur Herstellung von Gelatineplatten verwendet wurde. Die Zählung der aufgegangenen Kolonieen erfolgte am 4. Tage mittels des Wolffhügel'schen Zählapparates.

Ich kann auf die Details der sehr umfangreichen Arbeit hier nicht weiter eingehen und führe nur die Resultate derselben an:

„1) Im Vergleiche zur Naturbutter ist der Bakteriengehalt des Margarins und der Margarinprodukte ziemlich gering.

2) Der Keimgehalt der Margarinprodukte ist viel größer als der Keimgehalt des Margarins.

3) Während der Fabrikation des Margarins nimmt der Bakteriengehalt ab; im Premier jus ist er höher als im Oleomargarin.

4) Der Bakteriengehalt des Margarinschmalzes ist niedriger als der Keimgehalt der Margarinbutter.

5) Der Keimgehalt des Margarins nimmt mit dem Alter des Margarins stetig zu, und zwar an der Oberfläche in höherem Grade als im Innern.

6) Der Vertalgungsprozeß des Margarins steht mit der Vermehrung der Bakterien im Zusammenhange. Das Ansteigen des Bakteriengehaltes ist dem Fortschritte des Vertalgungsprozesses proportional.

7) Bei den Margarinprodukten kommt der Kälte ein wesentlich bakterientötender Einfluß zu, der sich bei dem Margarinschmalze in noch größerem Maßstabe äußert, als bei der Margarinbutter.

8) Die Außenpartieen des Margarins erweisen sich bakterienreicher, die Außenpartieen der Margarinprodukte als bakterienärmer als die entsprechenden Innenpartieen.

9) Mit der relativen Bakterienarmut an den Außenpartieen der Margarinprodukte geht ein Reichtum an Schimmelpilzen einher.

10) Von kranken Tieren herstammendes oder auf eine andere

Weise verdorbenes Rohfett darf bei der Margarinfabrikation keine Verwendung finden.

11) Die Verwendung centrifugierter Milch und möglichst keimfreien Wassers als Zusatz zum Oleomargarin vor der Verbutterung sind geeignet, den Keimgehalt in der Margarinbutter herabzudrücken.

12) Pathogene Bakterien sind weder in dem Margarin noch in den Margarinprodukten nachzuweisen; die besonders auf den Nachweis von Tuberkelbacillen gerichteten Untersuchungen sind sämtlich negativ ausgefallen.

13) Die vorgefundenen Bakterienarten gehören sämtlich den Saprophyten an; sie stammen teilweise aus der Luft und dem Wasser, teilweise aus der zugesetzten Milch oder der zugesetzten Naturbutter.

14) In dem Margarin finden sich zwei als Margarinbacillus α und β bezeichnete, bisher noch nicht identifizierte, nicht pathogene Bakterienarten vor, welche bei der Zunahme des Vertalgungsprozesses in größerer Menge angetroffen werden; sie stehen wahrscheinlich mit diesem Prozesse in kausalem Zusammenhange.

15) Unter den aus der Magarinbutter isolierten Organismen sind vier bisher nicht beschriebene; sie haben die Bezeichnungen Diplococcus capsulatus margarineus, Bacillus viscosus margarineus, Bacillus rhizopodicus margarineus und Bacillus rosaceus margarineus erhalten.“

Dräer (Königsberg i. Pr.).

Kutscher, Die Vibrionen- und Spirillenflora der Düngerjauche. [Aus dem hygien. Institut der Universität Gießen.] (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XX. p. 46—59.)

Kutscher gelang es, aus Düngerjauche 8 verschiedene Arten gekrümmter Bakterien zu isolieren und weiter zu züchten. Die Methode war folgende:

Es wurden je 80 ccm der in sterilem Erlenmeyer'schen Kölbchen entnommenen Jauche mit 8 ccm einer 10-proz. Pepton-Kochsalzlösung vermischt und für 24 Stunden im Brütschranke bei einer Temperatur von 28° C gehalten. Sodann wurden die Kölbchen daraufhin untersucht, ob eine Anreicherung irgend einer Vibrionenart stattgefunden habe. War dies der Fall, so wurden mit mehreren Oesen des Materials Agarplatten mit Verdünnungen angesetzt. Fanden sich keine Vibrionen, so wanderten die Kölbchen wieder in den Brütschrank zurück, bis sich — event. erst nach ca. 8 Tagen, mitunter auch überhaupt nicht — Vibrionen fanden. Von den Agarplatten aus wurden dann die einzelnen Arten isoliert. Es waren dies folgende, vom Verf. in mehreren Tabellen bezüglich ihres morphologischen und kulturellen Verhaltens genau beschriebene Arten:

4 flach gekrümmte, als Vibrionen bezeichnete Arten, unter ihnen eine mit allen Eigenschaften des Spirillum serpens und 4 stark gekrümmte als Spirillen bezeichnete Arten, von denen No. 1 ein feines Spirillum ist, welches vom Verf. auch aus Schweinekot isoliert wurde und wohl mit dem von Smith (diese Zeitschr. Bd. XVI. p. 324) im Schweinekot gesehenen zierlichen Spirillum identisch ist. No. 2 entspricht morphologisch dem Spirillum tenue,

No. 3 dem Spirillum Undula und No. 4 dem Spirillum volutans.

Die genaue Beschreibung der einzelnen Arten lese man im Originale nach. Dräer (Königsberg i. Pr.).

Eriksson, Jakob, Ueber die Spezialisierung des Parasitismus bei den Getreiderostpilzen. (Sonderabdruck aus Ber. d. deutschen botan. Ges. XII. 1894. H. 9. p. 292—331.)

Seit Ref. durch mehrjährige Versuche das merkwürdige Anpassungsvermögen der Knöllchenbakterien an ihre Wirtspflanzen kennen gelernt, welches dadurch zum Ausdruck gelangt, daß die in den Knöllchen bestimmter Leguminosenarten lebenden Bakterien meist nur mehr in die Wurzeln der gleichen oder nahe verwandter Arten einzudringen vermögen, trug er sich mit dem Gedanken, gelegentlich darauf hinzuweisen, daß jedenfalls auch in den verschiedenen in letzter Zeit bekannt gewordenen Fällen eines biologisch ganz verschiedenen Verhaltens morphologisch nicht oder kaum unterscheidbarer parasitischer Pilze nur derartige Anpassungsformen vorlägen. Insbesondere hatte er hier die Ergebnisse der an sich höchst interessanten Infektionsversuche Klebahn's im Auge, welche Veranlassung gaben, Peridermium Pini in eine Anzahl neuer Species zu zerlegen. Für die Knöllchenbakterien erscheint es nach neueren noch nicht veröffentlichten Versuchen, an welchen Ref. beteiligt war, kaum zweifelhaft, daß die verschiedenen Anpassungsformen derselben durch entsprechende Zuchtmethoden in einander überzuführen sind, also durchaus nicht als besondere Arten betrachtet werden können. Die Frage dürfte daher wohl berechtigt erscheinen, ob es nicht verfehlt oder mindestens verfrüht sei, solche doch bestimmt ebenfalls durch Anpassung entstandene Formen, wie sie bei Peridermium vorkommen, als Species hinzustellen und sie demgemäß mit eigenen Namen zu belegen.

Durch die wertvollen Arbeiten Eriksson's werden die Bedenken gegen ein solches Verfahren wesentlich verstärkt. In Gemeinschaft mit Henning hat derselbe durch ausgedehnte Versuche, welche sich über die Zeit von 1890 bis 1893 erstreckten, nachgewiesen, daß eine derartige Formenbildung auch bei jenen Rostpilzen, welche unsere Getreide- und Grasarten befallen, eine allgemein verbreitete und scharf hervortretende Erscheinung ist. Das Charakteristische dieser Formen, welche als spezialisierte Formen (formae speciales) bezeichnet werden, besteht gleichfalls darin, daß eine Verschiedenheit durch habituelle oder feinere morphologische Kennzeichen fehlt, die Krankheit aber durch Infektion (mit Uredosporen) von der Wirtspflanze nur auf Pflanzen derselben Art, nicht aber in der Regel auf andere Grasarten übertragbar ist. Um das Wesen der Spezialisierung näher zu ergründen, unternahm Verf. im Jahre 1894 noch zahlreiche neue Versuche, deren wichtige Resultate er in der vorliegenden Abhandlung zur Mitteilung bringt.

Auf Grund derselben werden z. B. bei Puccinia graminis, von der P. Phlei pratensis n. sp. als auf Berberis nicht äcidienbildend ganz abgesondert worden, folgende Formen unterschieden:

1) f. sp. Secalis auf Secale cereale, Hordeum pratense, Triticum repens und Elymus arenarius,
2) f. sp. Avenae auf Avena sativa, Milium effusum, Alopecurus pratensis, Dactylis glomerata (und Avena elatior),
3) f. sp. Airae auf Aira caespitosa,
Diese drei Formen als sicher getrennt, und
4) f. sp. Agrostis auf Agrostis canina und A. stolonifera,
5) f. sp. Poae auf Poa compressa (und P. pratensis),
beide noch unsicher, endlich die nicht scharf fixierte Form
6) f. sp. Tritici auf Triticum vulgare.

Da diese Formen alle auf Berberis Aecidien erzeugen, so wurde versucht, das Aecidiumstadium als Brücke zu benutzen, dieselben auf andere Grasarten überzuführen, als die, nach den Uredoinfektionen zu schließen, speziell dafür geeigneten. Diese Versuche gaben indessen negative Resultate, woraus mit Notwendigkeit folgt, daß man sich Berberis als Träger einer Mehrzahl biologisch verschiedener, wenn auch morphologisch nicht trennbarer Aecidiumformen vorstellen muß. Nach des Verf.'s Ansicht bleibt, sofern man an der allgemein herrschenden Auffassung des Speciesbegriffes festhält, kaum etwas anderes übrig, als derartige Formen zu biologischen Spezies zu erhöhen. Er selbst schreckt aber vorläufig doch noch vor einem solchen Schritte zurück, der es notwendig machen würde, „eine Menge neuer Namen aufzustellen, welche demjenigen, der dieselben machen soll, nicht geringe Schwierigkeiten, und demjenigen, der sie brauchen muß, nicht geringe Unbequemlichkeiten verursachen müssen."

Auch noch scherwiegendere Gründe haben jedenfalls den in seinen Schlußfolgerungen außerordentlich vorsichtigen Verf. abgehalten, plötzlich die Gramineenroste in eine Unzahl neuer Species zu zerspalten. So fand derselbe Formen, die sich nicht als scharf fixiert erwiesen. Pucc. graminis f. sp. Tritici auf Triticum vulgare z. B. gab in sämtlichen Versuchsjahren positive Resultate, wenn auch in relativ wenigen Fällen, bei Infektion von Roggen, Hafer und Gerste. Würde man die aus dieser Form etwa auf Roggen hervorgebildeten Uredosporen durch mehrere Generationen auf Roggen weiterzüchten, so müßte doch jedenfalls die Anpassung an diese Getreideart noch größer werden, und es wäre nach dem Dafürhalten des Ref. auf diesem Wege jedenfalls möglich, künstlich neue „Species" zu gewinnen.

Außerordentlich auffallen muß auch die Thatsache, daß manche Formen auf mehrere Gramineenarten überzusiedeln imstande sind, welche durchaus nicht in engen verwandtschaftlichen Beziehungen stehen. Man könnte geneigt sein, meint Verf., solche Arten möchten in der physikalisch-chemischen Beschaffenheit des Blattgewebes oder der einzelnen Blattzellen unter einander gleich sein, anderen Gräsern aber ungleich. Wäre dies der Fall, so müßten dieselben Grasarten, welche eine Form von Puccinia graminis gemeinsam haben, natürlich auch die gleiche Form von Puccinia glumarum etc. tragen. Dies trifft jedoch thatsächlich nicht zu: Von den vier Arten, auf welchen f. sp. Secalis der P. graminis vorkommt, beherbergt jede eine besondere Form des Gelbrostes. Es ist demnach „das Eintreten oder

das Ausbleiben des intimen Zusammenlebens zwischen den Pilzfäden und den Blattzellen, welches endlich zum Entstehen eines Sporen erzeugenden Hymeniums führt, als ein physiologisches Phänomen zu betrachten — wahrscheinlich in die große Gruppe der Reize fallend — wobei Kräfte mehrfacher Art zusammenwirken, deren inneres Wesen uns noch verborgen ist."

Sollten aber bei Hervorbildung dieser mehreren Grasarten gemeinsamen Formen nicht Zufälligkeiten mitgespielt haben? Ist es nicht denkbar, daß in weit von einander entlegenen Gegenden diese Anpassungen sich in verschiedener Richtung bewegten? Diese Fragen bedürfen jedenfalls zunächst einer Beantwortung, und daß sie auch den bewährten Verf. schon beschäftigten, lehrt der Umstand, daß von ihm stets, wo es möglich war, auch die Ergebnisse der Infektionsversuche anderer Autoren in Vergleich gezogen werden. Trotz der geringen Zahl derselben finden sich unter ihnen bereits einige abweichende Fälle, die, falls sie nicht durch unreines Infektionsmaterial bedingt sind, bereits zur Genüge darthun, wie sehr Verf. im Rechte war, wenn er vorläufig statt neuen zahllosen Species eine den alten Getreiderostarten untergeordnete neue Art von systematischer Einheit aufstellte.

Durch die Untersuchungen des Verf.'s tritt die Frage der Spezialisierung des Parasitismus als eine sowohl aus physiologischen wie aus systematischen Gesichtspunkten so bedeutungsvolle und umfassende auf, daß man dieselbe nicht mehr außer acht lassen kann. „Die Spezialisierung giebt uns einen schärferen Blick auf ein sehr weit gegangenes Formenbildungsvermögen der Natur, größer als man früher gedacht hat und von größter Bedeutung für die Systematik." Verf. hält es recht wohl für denkbar, daß ein Spezialisierungsgesetz in der ganzen Parasitenpilzlehre mehr oder weniger scharf durchgeführt werden könnte. In der That sind ja auch bereits aus verschiedenen Pilzgruppen Anpassungsformen oder „Gewohnheitsrassen", wie Magnus sie nennt, bekannt und auch unter den parasitischen Tieren, insbesondere den Wurzelnematoden, hat man in den letzten Jahren eine weitgehende, zur Spezialisierung im Sinne des Verf.'s führende Anpassungsfähigkeit an die verschiedenartigsten Pflanzen kennen gelernt. L. Hiltner (Tharand).

Pammel, L. H., Rutabaga Rot. Bacteriosis of Rutabaga (Bacillus campestris n. sp.) (Iowa Agricultural College Experiment Station. Bulletin No. 27. 1895.)

Der Verf. beschreibt das Faulen von Feldrutabagas und -Rüben, herbeigeführt durch einen Bacillus, welchen er B. campestris nennt. Die Krankheit beginnt gewöhnlich an der Krone, seltener an der Basis der Blätter oder an der Wurzel selbst. Die fibrovasculäre Zone wird schwarz, welche Erscheinung sich von der Basis der Blätter oder von der Krone tief hinab bis in die Wurzel erstreckt, während die sie umgebende Parenchymzone wässerig wird. Wärme und Feuchtigkeit beschleunigen die Krankheit, worauf der Kork sich leicht von dem fleischigen Teile der Wurzel loslöst und die ganze Wurzel und der Stamm in Mitleidenschaft gezogen werden.

Oft wird die Wurzel hohl und weist eine übelriechende, halbflüssige, von verschiedenen Arten von Bakterien wimmelnde Substanz auf. Auch in den verfaulenden, geschwärzten Teilen der Wurzel wurden Bakterien angetroffen. Verschiedene Bakterienspecies wurden in Esmarchrollen isoliert. Vorläufige Untersuchungen schienen einen gelben Bacillus als Erreger zu ergeben. Darauf wurden gesunde Pflanzen von einem nichtinfizierten Felde in das Treibhaus verpflanzt, nachdem die Blätter abgeschnitten und die Wurzeln gereinigt waren. Acht Pflanzen wurden mit dem gelben Bacillus inokuliert, während acht nicht inokuliert wurden. Mit einem glühenden Messer wurden Stücke von den Wurzeln ausgeschnitten, worauf eine Inokulation von Reinkulturen vorgenommen wurde. Dann wurden die Schnittflächen behufs Ausschließung der Luft mit Wachs geschlossen. Nach wenigen Tagen begannen die inokulierten Pflanzen zu faulen, und es zeigten sich alle Eigentümlichkeiten der Krankheit. Von diesen Pflanzen wurde wiederum derselbe Bacillus gewonnen.

Der Bacillus ist 1,87—3 μ lang und stets 0,37 μ breit, hat gerundete Enden und kommt einzeln oder in Ketten von 2 oder 3 vor. In jungen Kulturen färben die Stäbchen sich gleichmäßig und schnell mit Fuchsin oder Gentianaviolett. Sie bewegen sich lebhaft und gedeihen gut, wenn sie 4 Monate alten Kulturen entnommen werden. Sporen wurden nicht wahrgenommen.

Der Bacillus gedeiht bei gewöhnlicher Zimmertemperatur und bildet auf Agar-Agar ein cadmiumgelbes Pigment, folgt der Nadelspur und breitet sich über die Oberfläche aus. Das Wachstum ist beschränkter auf Gelatine, welche er nicht verflüssigt, als auf Kartoffeln; auf diesen erscheint er in kreisförmigen, erhabenen, körnigen Kolonieen, und das Pigment ist heller als auf Agar-Agar oder Gelatine. Auf Bouillon entsteht eine gelblich-weiße Haut, welche an dünnen Stellen einen metallischen Schimmer hat und sich schließlich auf den Boden der Röhre absetzt. In 5-proz. Rohrzucker bildet sich kein Gas und ist der Bacillus nur wenig anaërobisch. Eine Verflüssigung von Blutserum findet nicht statt. Die Krankheit wird durch warmes und feuchtes Wetter beschleunigt, durch trockene Witterung hingegen gehemmt. Auch das Alter wirkt auf die Empfindlichkeit der Pflanze für die Krankheit bestimmend ein, indem früh und spät gesäte Pflanzen ihr besser widerstehen als andere Saaten.

Atkinson (Ithaca, N. Y., U. S. A.).

Woronin, M., Die Sklerotienkrankheit der gemeinen Traubenkirsche und der Eberesche, Sclerotinia Padi und S. Aucupariae. (Mém. de l'Acad. Imp. des Scienc. de St. Pétersbourg. Sér. VIII. Vol. II. 1895. No. 1. c. tab. 5.)

Der von Woronin in der vorliegenden Arbeit mitgeteilte Entwickelungsgang der beiden Sklerotinien entspricht im allgemeinen dem der auf Vaccinien vorkommenden Arten. Gleich nach der Schneeschmelze beginnt das Sklerotium der Scl. Padi in die Ascusbecher auszukeimen und infiziert mit den ejakulierten Sporen die jungen Blätter der Traubenkirsche. Die Keimschläuche dringen in das Gewebe ein, bilden ein weitverzweigtes Mycel, das nahe der Oberfläche

unter der Cuticula büschelförmige Träger bildet, welche die Konidien (Chlamydosporen) reihenweise bilden und schließlich die Cuticula sprengen. Diese durch die charakteristischen Disjunktoren von einander getrennten Konidien werden durch Insekten auf die Narben verschleppt und keimen hier. Und zwar anastomosieren die Keimschläuche von mehreren Konidien mit einander, um dann einen starken Keimschlauch zu bilden, der den Griffelkanal hinunter bis zum Ovulum wächst. Die Weiterentwickelung und Ausbreitung des Mycels geht nur in befruchteten Eichen vor sich und führt schließlich zur Mumifizierung der Frucht und zur Bildung des Sklerotiums.

In Nährlösungen keimen Ascosporen und Konidien normal aus, die Keimschläuche der ersteren bilden ebenfalls bald Konidien. In Wasser dagegen findet nur eine kümmerliche Auskeimung statt, und zwar werden unmittelbar an den Sporen oder Konidien oder kurzen Keimschläuchen kleine, runde, nicht keimende Konidien gebildet.

Aehnlich ist der Entwickelungsgang des Scl. Aucupariae auf der Eberesche.

Wichtig sind die Bemerkungen, welche Woronin an diese Sklerotien anknüpft. Bei der völligen Gleichheit des Entwickelungsganges der beiden Arten vermutet er, daß beide nur Formen ein und derselben Art seien, und zwar, daß Scl. Aucupariae die Stammart, Scl. Padi eine erst später entstandene Substratform sei. Er stützt diese Ansicht durch Beobachtungen an einer Sclerotinia auf Prunus Cerasus. Von dieser Art sind Konidien und Ascusfrüchte noch nicht beobachtet worden, es ließ sich aber das Sklerotium durch Impfen mit Konidien von Scl. Padi erzeugen. Danach ist Scl. Cerasi vielleicht eine in der Bildung begriffene neue Art, die sich von Scl. Padi abzweigt. Aehnlich ist es mit Scl. Alni, welche von Scl. Betulae wahrscheinlich sich abzuzweigen beginnt.

Die bisher bekannten Sklerotinien können in 3 Gruppen untergebracht werden.

1) Der Entwickelungsgang spielt sich auf derselben Nährpflanze ab; es werden Konidien gebildet. Dazu würden die Sklerotinien auf Vaccinien und auf Prunus und Sorbus gehören..

2) Der Entwickelungsgang geht auf derselben Nährpflanze vor sich, aber die Konidien fehlen. Dazu gehören Scl. Betulae und Alni.

3) Die Konidien bilden sich auf einer, die Sklerotien auf einer anderen Nährpflanze aus (Heteröcie). Dazu würden Scl. heteroica und Scl. Rhododendri zu rechnen sein. Lindau (Berlin).

Prillieux et **Delacroix**, Sur une maladie de la canne à sucre produite par le Coniothyrium melasporum (Beck.) Sacc. (Bull. de la Soc. mycol. de France. 1895. p. 75.)

Seit längerer Zeit ist eine Krankheit des Zuckerrohrs bekannt, die unter Umständen höchst verderblich wird. Die äußerlich gesund aussehenden Pflanzen welken an der Spitze und scheiden am Stengel an scharf umschriebenem Punkte ein bräunliches Gummi aus. Die Erkrankung greift bis zur Basis der Pflanze hinunter. Als Ursache hatte Cobb ein Bakterium, Massee die Trichosphaeria

Sacchari hingestellt. Wie die Verff. nachweisen, ist der Krankheitserreger das Coniothyrium melasporum, das von Berkeley auf australischem Zuckerrohre gefunden war. Zum Beweise wurden Impfungen unternommen, die günstig verliefen. Die Verff. kultivierten den Pilz, vermochten aber keine Askenform dazu aufzufinden. Die beigegebene Tafel zeigt die verschiedenen Entwickelungsstadien und Fruchtformen des Pilzes. Lindau (Berlin).

Hennings, P., Ustilago Ficuum Reich. = Sterigmatocystis Ficuum (Reich.) P. Henn. (Hedwigia. Bd. XXXIV. 1895. p. 86.)

In einer Sendung getrockneter Feigenfrüchte des Handels fand Verf. einzelne mit einer schwarzen, etwas schmierigen Sporenmasse durchsetzte Exemplare. Der Pilz war der von Reichardt als Ustilago Ficuum beschriebene, gehört aber keineswegs zu den Ustilagineen, sondern zufolge näherer Untersuchung in die Gattung Sterigmatocystis und ist dem von Corda als Ustilago Phoenicis (von Patouillard und Delacroix aber richtig als Sterigmatocystis Phoenicis) beschriebenen ähnlich.

Die kuglige Anschwellung des Konidienträgers mißt etwa 45—60 μ im Durchmesser, die Pseudobasidien (= Basidien) haben 15—28 $\times$ 6—9 μ, die Sterigmen 9—8 $\times$ 2—3 μ, die Konidien meistens 4 μ. Letztere sind (nebst den Sterigmen) dunkel gefärbt, mit dickem glatten Epispor, und lieferten nach Aussaat auf Feigenfrüchte neue Vegetationen. Der Genuß pilzkranker Feigen wirkte nachteilig auf die Verdauungsorgane. Wehmer (Hannover).

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Munsche, A., Beiträge zur experimentellen Prüfung der Gesetze der natürlichen Reinzucht. (Zeitschrift f. Spiritusindustrie. Bd. XVIII. 1895. p. 198, 205.)

Im Anschlusse an Delbrück's Arbeit über natürliche Reinzucht ergänzt Verf. seine früheren Studien über die Elimination der wilden Hefe aus Unterhefe [1]) durch Versuche mit obergärigen und untergärigen Hefen (beide vom Frohbergtypus). Wenn die Oberhefe den Kampf mit der Brauereiunterhefe siegreich bestehen soll, müssen die Bedingungen so geschaffen sein, daß sich nur diejenige Hefenrasse entwickelt, welche gegen hohe Maischkonzentration, gegen Alkohol- und Säuregehalt (die Bedingungen der Spiritusfabrikation) widerstandsfähig ist. Die Versuche wurden so angestellt, daß eine Maische von 28,5° Balling zur Vergärung kam. Dieselbe war aus einem Kartoffelstärke-Verzuckerungsgemische unter Zusatz von Rohrzucker bereitet, wies einen Säuregehalt: 20 ccm = 0,45 n. Natron entsprechend 0,2 Proz. Milchsäure auf und wurde mit 1 g Hefe pro

1) Wochenschr. f. Brauerei. Bd. XII. 1895. 190.

100 ccm Flüssigkeit angestellt. Gärungstemperatur am ersten Tage 16° R, an den beiden folgenden 22° R. Als Hefe wurde verwendet: Mischhefe, d. h. gleiche Gew.-T. Ober- und Unterhefe, sowie beide Komponenten allein. Nach 48 Stunden wurde ein Teil (100 g) der gärenden Maische mit 500 ccm neuer Maische angestellt. Der Rest wurde weiter vergoren und mit dem frischen Gemische nach 48 Stunden in gleicher Weise (im ganzen sechsmal) verfahren. Aus der ausführlich mitgeteilten Tabelle ergiebt sich kurz, daß die Hefemischung im Anfange die höchste Alkoholausbeute ergab, daß die Bierhefe allein sowohl hinter der Ausbeute aus dem Gemische wie aus der Oberhefe im Ertrage zurückblieb. Die Bierhefe zeigte nach der Gärung einen sehr körnigen Inhalt und sehr viel abgestorbene Zellen, den größten Prozentsatz an gesunden Zellen wies die Mischhefe auf. Verf. läßt das allgemein günstige Resultat der Mischhefe (hauptsächlich in Bezug auf Alkoholertrag) vorläufig unerörtert und weist nur auf die Möglichkeit symbiotischer Wirkung beider Rassen hin.

Wichtig ist die genannte Erscheinung insofern, daß hierdurch die Möglichkeit gegeben ist, zu konstatieren, ob bei der fortgesetzten Weiterführung der Mischhefe die Resultate konstant bleiben oder sich dem gesamten Gärungsbilde der reinen Ober- oder Unterhefe nähern. Es ergab sich für die Mischhefe, daß nach viermaliger Führung die Gärungserscheinungen ebenso verliefen, wie bei der Oberhefe. Daß die Unterhefe nunmehr vollständig unterdrückt war, läßt sich allerdings mit genügender Sicherheit noch nicht schließen. Verf. stellte deshalb noch ausführlichere Untersuchungen über die Abwesenheit der Unterhefe in den behandelten Hefengemischen an, und zwar nach der Lindner'schen Tropfenmethode[1]), sowie nach der Bau-schen Melitriose- bez. Melibioseprobe[2]).

Nach beiden Methoden wurde festgestellt, daß die Bierhefe (Unterhefe) in der Konkurrenz beider Heferassen unter den der obergärigen Brennereihefe angepaßten Kulturbedingungen vollkommen vernichtet worden war.

In einer zweiten Versuchsreihe wurde die Säuremenge des Maischgutes auf 0,77 Proz. (als Milchsäure, 20 ccm Maischgut = 1,70 n. Natron) gebracht, und demgemäß ungünstigere Bedingungen für die Unterhefe geschaffen. Aus dem Gärverlaufe und den weiteren Untersuchungen war zu ersehen, daß bereits nach dreimaliger Führung die Unterhefe vollständig verschwunden war. Auch hier wurden die Resultate in zwei ausführlichen Tabellen niedergelegt.

Bau (Bremen).

---

1) Bonner Brennereizeitung. 1891. p. 910.

2) Vgl. Wochenschr. f. Brauerei. Bd. XI. 1894. p. 113, 1366, 1439; Zeitschr. f. Spiritusindustrie. Bd. XVII. No. 46; Chemikerzeitung. Bd. XVIII. 1894. p. 1794.

Schutzimpfung, künstliche Infektionskrankheiten, Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Moritz, J. und **Ritter, C.**, Die Desinfektion von Setzreben vermittelst Schwefelkohlenstoff zum Zwecke der Verhütung einer Verschleppung der Reblaus (Phylloxera vastatrix Pl.). Mit 2 Fig. im Texte. Berlin (Jul. Springer) 1894.

Die Versendung von Setzreben schließt, wie Verff. an mehreren Beispielen darthun, im Hinblicke auf die Verbreitung der Reblaus eine große Gefahr in sich. Es wäre daher sehr wichtig, ein Verfahren zu besitzen, welches ermöglichen würde, die Reben von etwa vorhandenen Rebläusen und deren Eiern zu befreien, ohne gleichzeitig die Reben selbst zu schädigen. Die bisherigen Versuche mit Schwefelkohlenstoff, welcher zu dem genannten Zwecke unzweifelhaft das geeignetste Mittel darstellt, haben zwar zu schätzbaren Ergebnissen, aber nicht zur Annahme eines bestimmten Desinfektionsverfahrens geführt, da man bei denselben die Wirkung auf die Reben selbst nicht mit in Betracht gezogen hat. Diese Lücke ist von den Verff. durch zahlreiche Versuche ausgefüllt, welche in der vorliegenden Abhandlung in zwei gesonderten Abschnitten besprochen werden, nämlich:

I. Versuche über die Einwirkung des Schwefelkohlenstoffes auf die verschiedenen Entwickelungsformen der Reblaus, insbesondere auf deren Eier, von J. Moritz (p. 6—23).

II. Versuche betreffend die Einwirkung von Schwefelkohlenstoffdämpfen auf die Vegetation der Rebe von C. Ritter (p. 23—47).

Nach dem Absterben der Rebläuse sowohl wie deren Eiern nimmt der Körperinhalt eine mehr oder weniger geronnene Beschaffenheit an, so daß im Gegensatze zu lebenden Objekten ein Ausströmen desselben in das umgebende Wasser meist nicht stattfindet, wenn man das betr. Objekt durch Druck unter dem Deckglase zum Zerreißen bringt. Wird aus Eiern doch ein Teil des Inhaltes entleert, so zeigt die herausgestoßene Masse eine kompakte geronnene Konsistenz und erscheint mit verhältnismäßig großen Fetttropfen durchsetzt, welche bei lebenden Eiern nicht zu beobachten sind. Dieser von Moritz zu verschiedenen Malen konstatierte Unterschied schien hinreichend, um bei den Versuchen zur Unterscheidung lebender und toter Reblauseier dienen zu können.

Zur Ausführung der Versuche benutzten beide Verff. einen hölzernen, mit Zinkblech ausgekleideten Kasten, der während der Dauer der einzelnen Versuche mit Schwefelkohlenstoffdämpfen gesättigt war.

Aus den Ergebnissen von 14 Einzelversuchen ist zu folgern, daß eine Expositionsdauer von 15—20 Minuten unter Umständen genügt, um alle Reblauseier zu töten, daß aber andererseits selbst bei einer halbstündigen Einwirkung des giftigen Gases der Erfolg ausbleiben

kann. Erst bei einer Expositionsdauer von 40 oder mehr Minuten erscheinen ausnahmslos alle Eier und auch sämtliche Rebläuse getötet. Für die Praxis ist dies Ergebnis dahin zusammenzufassen, daß die Reblauseier bei einer Temperatur von mindestens 20° C mit Sicherheit getötet werden, wenn die Expositionsdauer 1 Stunde beträgt.

Da die Versuche die Vermutung nahe gelegt hatten, daß die Temperatur bezüglich der Schnelligkeit, mit welcher der Schwefelkohlenstoff zur Wirkung gelangt, nicht ohne Einfluß sei, so wurden sie auch nach dieser Richtung ausgedehnt. Dabei erwies sich bei Temperaturen von über 27° C eine Expositionszeit von mehr als 23 Minuten als genügend, um in der Regel alle im Sommer auftretenden Entwickelungsformen der Reblaus zu töten; von 35 Minuten an war der Erfolg ein absolut sicherer. Auf Grund der beim Arbeiten mit höheren Temperaturen gemachten Erfahrungen muß von einer Anwendung derselben in der Praxis abgesehen werden; vielmehr empfiehlt es sich, die Desinfektion von Reben bei Temperaturen vorzunehmen, die nicht unter 20° C liegen, aber 30° C nicht überschreiten.

Ritter experimentierte mit Wurzelreben und unbewurzeltem Setzholze. Für erstere faßt er die gewonnenen Ergebnisse folgendermaßen zusammen:

1) Die Desinfektion von Wurzelreben im Monat März, wo die Saftcirkulation noch nicht eingetreten ist, thut den Pflanzen wenig oder gar keinen Eintrag, wenn die Desinfektionsdauer bei 20° C 120 Minuten oder bei 25° C 90 Minuten nicht überschreitet.

2) Eine Desinfektion der Wurzelreben im April wirkt mehr oder weniger schädigend auf die Pflanzen und ist deshalb nicht zu empfehlen.

3) Im Mai, wo der erste Saftandrang vorüber ist, leiden zwar die Pflanzen am Anfang und es werden namentlich die bereits vorhandenen grünen Triebe vernichtet, doch behalten die Reben Kraft genug, um sich später wieder normal zu entwickeln.

Bei den unbewurzelten Setzreben übt bei 20 oder 25° C eine 120 Minuten währende Einwirkung von Schwefelkohlenstoff keinen in Betracht kommenden Schaden aus. L. Hiltner (Tharand).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

Dr. Wilhelm Windisch.

Allgemeines über Bakterien und andere Mikroorganismen.

Arbeiten aus dem bakteriologischen Institute der technischen Hochschule zu Karlsruhe. Herausgegeben von L. Klein und W. Migula. Bd. I. Heft 3. gr. 8°. p. 239—377. Karlsruhe (O. Nemnich) 1895. 3,60 M.

Dangeard, P. A., Observations sur le groupe des bacteries vertes. (Ann. de microgr. 1895. p. 67.)

De Harm, J. en Straub, M., Voordrachten over bacteriologie. Leiden (R. van Doesburgh) 1895. 5,90 fl.
Renault, B., Sur quelques Bactéries des temps primaires. (Bull. du Mus. d'Hist. natur. Bd. I. 1895. No. 4.)

Systematik, Morphologie und Biologie der Bakterien und anderer Mikroorganismen.

Gruber, Th., Die Arten der Gattung „Sarcina". (Aus „Arbeiten des bakteriol. Instituts der großherzogl. Hochschule zu Karlsruhe".) gr. 8°. 54 p. Karlsruhe (O. Nemnich) 1895. 1,80 M.
Roze, E., Le Cohnia roseo-persicina Wint. (Bull. de la Soc. Mycol. de France. 1895. p. 104.)
Thumm, K., Beiträge zur Biologie der fluoreszierenden Bakterien. (Aus „Arbeiten des bakteriologischen Instituts der großherzogl. Hochschule zu Karlsruhe".) gr. 8°. 89 p. Karlsruhe (O. Nemnich) 1895. 3 M.

Allgemeine Gärungsphysiologie.

Brauerei

Delbrück, M., Die natürliche Reinzucht in der Praxis. Vortrag, gehalten auf der 13. ordentlichen Generalversammlung der Versuchs- und Lehranstalt für Brauerei in Berlin. (Wochenschr. f. Brauerei. Jahrg. XII. 1895. No. 30. p. 732.)
Lindner, P., Neuere Erfahrungen über Infektionen und ihre Beseitigung. Vortrag, gehalten auf der 13. ordentlichen Generalversammlung der Versuchs- und Lehranstalt für Brauerei in Berlin. (Wochenschrift für Brauerei. Jahrg. XII. 1895. No. 30. p. 737.

Nahrungs- und Genußmittel, Konserven etc.

Sammlungen.

Stühlen, A., Ueber die Verbreitung von Krankheiten durch Milch und deren Produkte, sowie über die Maßregeln gegen die Verbreitung vom sanitätspolizeilichen Standpunkte. (Tiermed. Vortr. herausgeg. von Schneidemühl Bd. III. 1895. Heft 7.) gr. 8°. 32 p. Leipzig (Felix) 1895. 1,50 M.

Durch Parasiten verursachte Krankheiten der Pflanzen.

Atkinson, G. F., Leaf curl and plum pockets. Contribution to the Knowledge of the prunicolous Exoasceae of the United Stakes. (Cornell Univ. Agric. Exp. Stat. Bull. No. 73. 1894. c. tab. 20.)
— —, Additions to the Erysipheae of Alabama. (Journal of the Elisha Mitchell Sc. Soc. X. 1894. p. 74.)
Briosi, G. e Cavara, F., I Funghi parassiti delle piante coltivate ad utili essicati, delineati e deseritti. Indice generale dei Funghi parassiti contenuti nei Fascicoli I—X. (Sammlung.)
Dammer, U., Ascochyta Pisi, an injurions parasite on peas. (The Gard. Chron. 3. ser. vol. XVII. 1895. p. 584.)
Fischer, E., Weitere Infektionsversuche mit Rostpilzen. (Mitteil. der Naturf. Ges. in Bern 1895. Sitzungsber. u. Bot. Centralbl. Bd. LXII. 1895. p. 380.
— —, Die Entwickelung der Fruchtkörper von Mutinus caninus (Huds). (Ber. d. Dtsch. Bot. Ges. Bd. LXII. 1895. p. 128.)
Germain, Mildew in vine yards. (Agric. Gaz. N. S. W. V. 1894. No. 10. p. 701.
Klöppel, Der Getreiderost und seine Bekämpfung. (Der Landbote. Jahrg. XVI. 1895. No. 64. p. 563.
Krüger, F., Beiträge zur Kenntnis von Septoria graminum Desm. (Ber. d. Dtsch. Bot. Ges. 1895. p. 137. c. tab.)
Migabe, K., Note on Ustilago esculenta P. Henn. (The Tokio Bot. Magaz. 1895. p. 197.)
Schwarz, F., Die Erkrankung der Kiefern durch Cenangium Abietis. Beitrag zur Geschichte einer Pilzepidemie. Jena (G. Fischer) 1895. 126 p. 2 Taf. 5 M.
Shirai, M., On „Hexenbesen" of Prunus pseudo-cerasus. (The Tokio Bot. Magaz. 1895. p. 161. c. tab. Japan.)
Sydow, Uredineen, Fasc. XIX. (Juni 1895.) (Sammlung.)
Taft, L. R. and Davis, G. C., Pests of Orchard and Garden. (Michigan State Agric. College Experim. Stat. Bull. 121. April 1895. c. fig.)

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Brunner, Conrad, Notiz zur Methode der Isolierung von Bakterien auf Agarplatten im Reagenzglase. (Centralbl. f. Bakt. u. Paras. 1. Abteil. Bd. XVIII. 1895. No. 2/3. p. 59.

Ilkewitsch, Konstantin, Eine verbesserte Spritze für bakteriologische Zwecke. (Centralbl. f. Bakt. u. Paras. 1. Abteil. Bd. XVIII. 1895. No. 2/3. p. 55.

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien.

Gamba, P., Sull' azione battericida della luce solare. (Riv. clin. e terap. 1894. p. 449—460.)

Géneau de Lamarlière, La muscardine du Chinch-bug en Amérique. (Rev. mycol. 1895. p. 118.)

Rumm, C., Zur Kenntnis der Giftwirkung der Bordeauxbrühe und ihrer Bestandteile auf Spirogyra longata und die Uredosporen von Puccinia coronata. (Ber. d. Dtsch. Bot. Ges. 1895. p. 189.)

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

1895. Centralblatt Bd. I. No. 17.

für Bakteriologie und Parasitenkunde.

II. Abteilung.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie und Parasitenkunde.

Zweite Abteilung:

Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie und Pflanzenpathologie.

In Verbindung mit
Prof. Dr. **Adametz** in Krakau, Dr. W. M. **Beyerinck** in Delft, Prof. Dr. **A. B. Frank** in Berlin, Dr. **v. Freudenreich** in Bern, Prof. Dr. **Emil Chr. Hansen** in Kopenhagen, Dr. **Lindner** in Berlin, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Dr. **Erwin F. Smith** in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. **Stutzer** in Bonn, Privatdocent Dr. **Wehmer** in Hannover, Dr. **Weigmann** in Kiel, Dr. **Wilfarth** in Bernburg und Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg.
herausgegeben von

Dr. O. Uhlworm in Cassel.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

I. Band. **Jena**, den 28. September 1895. **No. 18/19.**

Preis für den Band (26 Nummern) 16 Mark.

Original - Mittheilungen.

Zur Charakterisierung der Duclaux'schen Tyrothrixarten, sowie über die Variabilität derselben und den Zusammenhang der peptonisierenden und Milchsäurebakterien.

[Arbeiten aus dem tierphysiologischen Institute der k. k. Hochschule für Bodenkultur in Wien.]

Von

Dr. Willibald Winkler,
Privatdozenten und Assistenten.

Mit 2 Tafeln.

(Fortsetzung und Schluß.)

Die Stärke des Labfermentes von T. tenuis prüfte Duclaux durch Vermischen von Milchkulturen mit bestimmten Mengen frischer Milch und Beobachtung der Koagulationsdauer. Es dauerte

bei einem 30-, 40- und 60-fachen Volumen Milch bei 35° C die Koagulation 11, 18 und 31 Minuten. Bei einem ähnlichen Versuche, den ich mit den einzelnen Varietäten ausführte, wirkte Varietät 1 am schnellsten, erzeugte aber mehr grobflockige Gerinnung, wahrscheinlich infolge der gleichzeitigen Wirkung von Kasease; die Varietät No. 4 zeigte eine etwas schwächere Wirkung, erzeugte aber eine gleichmäßig porzellanartige Gerinnung, No. 6 bewirkte erst nach längerer Zeit Gerinnung.

Für die Peptonisierung oder die Wirkung der Kasease, die mit der Lababscheidung Hand in Hand geht, stellte Duclaux fest, daß bei Vermischung von gleichen Mengen frischer und durch T. tenuis zersetzter Milch schon in 15 Minuten vollständige Zersetzung eintrat. — Inwieweit die Milchsäurebildung und Gasentwickelung auf Kosten des Milchzuckers vor sich geht, bleibt vor der Hand unentschieden, thatsächlich geht die Gärung in gewöhnlicher Peptongelatine ebenso gut, manchmal noch besser vor sich als in Milchzuckergelatine.

Das Gärungsvermögen wird durch Luftabschluß gesteigert. Für die Erklärung der Käsegärung resp. Lochung ist es von Bedeutung, daß auch ein peptonisierendes Bakterium lebhaft gären kann. — Außer den 4 besprochenen Wirkungen ist bei manchen Varietäten noch eine fünfte zu bemerken, eine geringe Farbstoffproduktion. Dieselbe äußert sich dadurch, daß die älteren Gelatine- und Milchkulturen der stark peptonisierenden Varietäten eine dunkelbraune Färbung annehmen, während dieselben von gärenden Varietäten licht bleiben. Es ist in diesem Falle jedoch nicht die gleichzeitig gebildete Säure die Ursache des Unterbleibens der Farbstoffproduktion, da die dunkelgefärbten Kulturen sich durch Säurezusatz nicht entfärben. Mit der Steigerung der Farbstoffproduktion tritt bei Varietät 1 und 2 in Gelatinekulturen grüne Fluorescenz auf. Die fluorescierenden Arten erzeugen auf Kartoffel einen hellkarminroten Farbstoff.

Größe und Beweglichkeit der Stäbchen. Dieselben erscheinen von dem Nährboden stark beeinflußt, so daß es, wie wohl auch bei vielen anderen Bakterienarten, von sehr untergeordneter Bedeutung ist, die Größe der Stäbchen genau anzugeben. Im allgemeinen werden in 1-proz. Milchzuckergelatine die Stäbchen länger und kräftiger und brauchen länger zur Sporenbildung als in gewöhnlicher Peptongelatine. Der Milchzucker scheint eine gewisse Reizwirkung auf diese Bakterien zu besitzen. Nur bei gewissen Anpassungsvariationen von No. 2 ist das Umgekehrte der Fall. Aber auch nach den einzelnen Varietäten zeigen sich bemerkenswerte Unterschiede, welche einen Zusammenhang mit den veränderten physiologischen Wirkungen erkennen lassen. In Gelatinekulturen sind die Stäbchen bei den stark verflüssigenden und die Milch stark peptonisierenden Formen kürzer und weniger beweglich, als bei den gärenden Varietäten, am längsten (8—10 μ) und am lebhaftesten beweglich sind die Stäbchen der ganz trocken wachsenden Formen von No. 6 in Milchzuckergelatine. Eine Mittelstellung in Bezug auf Länge und Beweglichkeit der Stäbchen nimmt die Varietät No. 4 ein,

bei welcher auch Gärung und Verflüssigung ziemlich gleichmäßig ausgeprägt erscheinen. Auffallend ist, daß die Varietät No. 3, welche sich auf der Platte so rasch ausbreitet, zwar sehr lange (8 μ), aber unbewegliche Stäbchen besitzt, so daß bei derselben gleichsam die Bewegungsenergie durch die Wachstumsenergie ersetzt ist. Nach der Ueppigkeit der Stäbchen richtet sich auch die Größe der Sporen. Dieselben sind in der Regel $1^1/_2$—2 μ lang und 1 μ breit, in Milch auch $2^1/_2$ μ lang und $1^1/_2$ μ breit.

Einfluß des Nährbodens und Anpassung. Peptongelatine scheint auf alle Varietäten hemmend zu wirken; dies wurde schon bei der Beschreibung der einzelnen Varietäten hervorgehoben und zeigte sich nicht nur in der geringeren Größe der Stäbchen und kürzeren Vegetationsdauer, resp. rascheren Sporenbildung, sondern auch in einer Abschwächung der physiologischen Wirkungen. Deutlich trat dies bei diesbezüglichen Kulturversuchen mit der Varietät No. 6 hervor. Nach längerer, durch wiederholte Abimpfung erneuerter Kultur in Peptongelatine bildete diese Varietät auf Gelatineplatte nur ganz kleine, kaum 1 mm breite Kolonieen, die ausgedehnt verflüssigten und sehr bald Sporen bildeten. Noch auffallender war dies nach Uebertragung von Kartoffel in Peptongelatine zu bemerken. Die Kolonieen wurden dann nur $^1/_3$ mm breit, zeigten in kurzer Zeit meist nur Involutionsformen, geschrumpfte Stäbchen mit granuliertem Protoplasma und keine Sporen. Uebereinstimmend damit zeigten solche Stichkulturen in Milchzuckergelatine, die von einer 2. Peptongelatinegeneration, d. h. einer 2mal hintereinander durch längere Zeit auf Peptongelatine gezogenen Kultur abgeimpft waren, bedeutend schwächeres Wachstum, als nach einer einmaligen Kultur in Peptongelatine; beide aber blieben gegen eine gleichzeitige Abimpfung von Kartoffel stark zurück. Peptongelatine befördert bei dieser Varietät das Verflüssigungsvermögen, während Gegenwart von Milchzucker dasselbe mehr oder minder aufhebt. Dies wurde unter anderem auch durch folgenden Versuch dargethan. Von einer und derselben verflüssigten, Sporen enthaltenden Kolonie der Varietät No. 6 auf einer Peptongelatineplatte wurde je eine Stichkultur in Peptongelatine und in Milchzuckergelatine von gleichem Alter angelegt; nach 15 Tagen war die Stichkultur in Peptongelatine vollkommen verflüssigt und zeigte reichliche Zooglöenmassen, die Milchzuckerstichkultur nicht verflüssigt, im unteren Teile des Striches nur punktförmig wachsend, die Gelatine von 2 großen Gasblasen durchsetzt. Desgleichen wurden von einer trockenen Kolonie (ohne Sporen) einer Milchzuckergelatineplatte je eine Abimpfung in Peptongelatine und in Milchzuckergelatine gemacht. Nach 15 Tagen war die erste wiederum vollkommen verflüssigt mit wenig Zooglöenmassen durchsetzt, die andere war nicht verflüssigt, wuchs im ganzen Stiche bis unten kompakt und zeigte in der Gelatine mehrere große Gasblasen. Es zeigen die ersten zwei Stichkulturen eine größere Anpassung an Peptongelatine. Sie zeigen auch, daß Milchzucker auffallend das Trockenwachstum und die Gasentwickelung befördert. Noch deutlicher zeigte sich die Anpassung an Peptongelatine an einer sehr alten, öfter von neuem auf Peptongelatine übertragenen Kultur; Abimpfungen von derselben in Peptongelatine wuchsen viel üppiger und

zeigten reichlichere Gasentwickelung als solche in Milchzuckergelatine. Auch an der fluorescierenden Abänderung der Varietät No. 1 zeigte sich der hemmende Einfluß der Peptongelatine. Kulturen, die zuerst in Milchzuckergelatine, dann in Peptongelatine und solche, die zuerst auf Kartoffel, dann in Peptongelatine gezogen waren, gediehen in der Milch viel schlechter als solche, die von Kartoffel auf Kartoffel und dann in Milch übertragen worden waren. Der Einfluß des Nährbodens wurde auch an der Varietät No. 4, bei welcher Lababscheidung, Peptonisierung, Säurebildung und Gasentwickelung gleichzeitig deutlich hervortreten, geprüft. In Milch entwickelte diese Art die kräftigste Wirkung nach direkter Uebertragung von einer frischen Milchzuckergelatinekultur. Schon nach 24 Stunden machten sich die charakteristischen Erscheinungen, Labgerinnung und Peptonisierung bemerkbar. Ueberimpfungen in der Reihenfolge Milchzuckergelatine — Kartoffel — Milch bewirkten in der Milch raschere Gerinnung und Lösung als in der Reihe Peptongelatine — Milch — Milch. Kartoffel erweist sich, wie schon das üppige Wachstum der peptonisierenden Arten darauf darthut, als ein guter Nährboden, wenn auch minder günstig als Milchzuckergelatine oder Milch. Nach Kultur auf saurer Kartoffel erscheint die Gärung sehr gefördert, nach solcher auf alkalischer Kartoffel geringer, jedoch die Säurebildung stärker. Sind auch diese Kulturversuche noch sehr lückenhaft, so beweisen sie doch zur Genüge, daß sich durch den Einfluß des geänderten Nährbodens bei Tyrothrix tenuis ziemlich rasch die Eigenschaften in mannigfacher Weise ändern und sich auf diese Weise ziemlich differente Varietäten bilden können. Eine ähnliche Variabilität kennt man ja auch von anderen Bakterien (Bac. coli, B. pyocyaneus, B. anthracis und mehreren pathogenen Arten etc.). Für das Verhalten dieses Bakteriums bei der Käsereifung ist es von Interesse, zu wissen, daß dasselbe durch einen geringen Milchzuckergehalt des Nährbodens, wie er ja bei Hartkäsen vorkommt, stark abgeändert und in ein gärendes, Milchsäure produzierendes verwandelt werden kann.

Thyrothrix urocephalum Ducl.

Duclaux: Gehört zu den fakultativ anaëroben Bakterien und ist Gas entwickelnd, was Duclaux als den Anaërobien eigentümlich annimmt. Energischer Fäulniserreger. Bildet in Milch bei Luftzutritt cylindrische Stäbchen von ungefähr 1 μ Dicke. Dieselben bilden Fäden und verfilzen sich zu Häutchen. Bei gewöhnlicher Temperatur wird die Milch ohne Koagulation zu einer fast klaren Flüssigkeit gelöst, bei höherer Temperatur wird dieselbe zuerst koaguliert. Auch hier wirken Lab und Kasease gleichzeitig oder aufeinander folgend. Die Fäden zerfallen zum Schlusse in kurze oder zu zweien verbundene Stäbchen, die später keulig aufgeblasen erscheinen und die Sporen enthalten. Bei Luftabschluß und in einer Kohlensäureatmosphäre entwickelt dieses Bakterium Gase, die aus Kohlensäure, Wasserstoff und etwas Schwefelwasserstoff bestehen. Die Stäbchen sind dann breiter und bilden gewöhnlich rosenkranzförmige Ketten, besonders im Moment der Sporenbildung. Die Milch zeigt dann eine deutliche saure Reaktion und unangenehmen fauligen und Knoblauchgeruch.

Bei Luftzutritt ist der Geruch viel reiner und beinahe gut. In der Flüssigkeit finden sich vor: Leucin, Tyrosin, ein drittes, nicht näher bekanntes Amid, valerinsaures Ammonium und andere Ammoniakverbindungen. Milchzucker, milchsauren Kalk und Glycerin greift T. urocephalum nicht an. In einer alkalischen Flüssigkeit gehen die Stäbchen bei 90– 95°, die Sporen in einer neutralen bei 100—105° bald zu Grunde.

Eigene Beobachtungen. Diejenigen Urocephalumkulturen, welche mir zur Verfügung standen, zeigten viele Aehnlichkeiten mit T. tenuis, insbesondere mit den Varietäten No. 4 und 6, so daß man dieselbe direkt als eine robuste Varietät der ersteren bezeichnen könnte. Die Stäbchen sind etwas derber, nicht so zart und lichtbrechend wie T. tenuis und dicker, die Kolonieen auf der Platte treten schärfer hervor, und der Belag auf der Kartoffel erscheint massiger. Charakteristisch für diese Art ist die starke Gasentwickelung, die auch Ducl. besonders hervorhebt. Dagegen fand ich das zweite charakteristische Merkmal, die stark aufgeblasenen Zellen im Zustande der Sporenbildung, die spindeligen, clostridium-artigen Zellen, zwar auch auf Milchzucker- und Pepton-Gelatine auftretend (Taf. I, Fig. 24 und 25), jedoch nicht ausschließlich, in der 2. und 3. Kultur waren die Stäbchen mit Sporenbildung nicht blasig aufgetrieben, sondern wie bei T. tenuis in der Mitte verdickt (Taf. I, Fig. 26).

Plattenkulturen. Die Anfangsstadien der Kolonieen sind kleine, runde, elfenbeinweiße Köpfchen oder flechtenartige Auflagerungen, die, ohne zu verflüssigen, 2—3 mm breit werden; später bilden dieselben eine breite, leicht getrübte Verflüssigungszone in der sehr häufig konzentrische Ringe hervortreten. In der Ausdehnung von 8—15 mm zeigen die Kolonieen einen weißen verwaschenen Mittelfleck oder mattweiße Mittelrosette, umgeben von einem feinen Adernetz oder Flockenhof, breite Verflüssigungszone mit scharfem, stark hervortretendem Rande und 1, 2 oder 3 konzentrischen Ringen (Taf. I, Fig. 20—22), ähnlich wie bei T. tenuis var. 4. Auf Milchzuckergelatine treten die Kolonieen schärfer hervor und wachsen besser. Manche Kolonieen bleiben lange auf der ersten Stufe der flechtenartigen Kolonie stehen, zum Schlusse verflüssigen jedoch alle. Die Mitte der Kolonie ist schleimig fadenziehend und die verflüssigten sind zähflüssig, tropfen nicht von der Platte ab. Bei genauerer Vergleichung lassen sich auch bei T. urocephalum Kolonieen unterscheiden, welche die Neigung zeigen, trocken zu wachsen (Taf. I, Fig. 23) und solche, welche stark verflüssigen. Ich habe auch bei dieser Art mehrere Varietäten neben einander fortgezüchtet und bei den einen das Peptonisierungs-, bei den anderen das Gärungsvermögen gesteigert gefunden.

Bei trockenem Wachstume der Kolonieen auf der Platte zeigt sich die Gasentwickelung in Milch besonders hervortretend.

Die Stäbchen sind auf Gelatine meist 6—10 μ lang und etwa 0,8 μ breit und besitzen eine dünne Schleimhülle. Die kürzeren zeigen lebhaft schlängelnde Bewegung. Bei den beweglichen Stäbchen, welche ihre volle Länge erreicht zu haben scheinen, erscheint

das Protoplasma gegen die Enden oder auch noch in der Mitte zusammengeballt. In der Milch sind die Einzelstäbchen meist 8—10 μ lang, zum großen Teil aber zu außerordentlich langen Fäden ausgewachsen. In Ziel'scher Lösung färben sich dieselben rasch. Sporenbildung tritt schon auf der Platte ein, zunächst in der Mitte der Kolonieen. Die sporenbildenden Zellen zeigen sich auf Milchzuckergelatine oft blasig aufgetrieben, 3 μ lang, 2 μ breit, die länglichen Sporen mittel- oder wandständig, 2 μ lang. Die blasigen Zellen zeigen an den Enden Protoplasmareste. In Peptongelatine sind die Auftreibungen schwächer, auffallend sind auf letzterer in alten Kolonieen korkzieherartig gewundene, langsam bewegliche Involutionsformen. Häufig unterbleibt jedoch bei der Sporenbildung die blasige Auftreibung der Zellen und die Spore bildet sich dann als Anschwellung in der Mitte der Stäbchen. Dieses Verhalten erinnert sehr an dasjenige der Granulobakterarten.

Stichkulturen. Im Stiche entsteht anfangs ein mattweißer Belag, der nach unten gewöhnlich nur inselartig wächst; die ganze Gelatine ist von zahlreichen Gasblasen durchsetzt. Die Verflüssigung der Gelatine geht sehr langsam vor sich und schreitet schichtweise von oben nach unten vor (Taf. I, Fig. 27 u. 28). In der Flüssigkeit sammeln sich an der Oberfläche zahlreiche Gasblasen. Die Gasentwickelung tritt oft in gewöhnlicher Gelatine stärker auf als in Milchzuckergelatine.

Agar-Strichkulturen. Mehr oder minder dicker Belag, gelblich-weiß oder weiß, wachsglänzend, Rand fein doppelt gezackt, Mitte meist eingesunken (im Gegensatze (?) zu T. tenuis), mit feinen rötlichen oder gelblichen Punkten besetzt (Taf. I, Fig. 29). Die einzelnen Varietäten zeigen deutliche Unterschiede.

Kartoffelkulturen. Grau- oder gelblich-weißer, nach längerer Zeit gelbbrauner Belag, lackartig glänzend; im Kondenswasser stark gärend.

Milchkulturen. Die Milch gerinnt anfangs vollkommen gleichmäßig kompakt, wird nach und nach mit dem Fortschreiten der Säurebildung unter Abscheidung von hellem Serum klumpig. Indem sich dann die geronnene Masse von der Oberfläche aus gelatinös erweicht, wird sie zum Schlusse (nach 2—3 Monaten) vollkommen in eine dunkelweingelbe Flüssigkeit aufgelöst. Während dieses ganzen Prozesses findet eine energische Gasentwickelung statt. Die Milch hat sehr bald einen bitteren Geschmack und einen käsigen, etwas aromatischen Geruch. Das Bakterium bildet in derselben außerordentlich lange Fäden, indem sich die einzelnen Stäbchen sehr stark, auf 100 und 200 μ verlängern. Wie schon Duclaux hervorhebt, reagieren Milchkulturen stark sauer, einen unangenehmen, fauligen Geruch konnte ich an derselben nicht wahrnehmen; im Gegenteil war derselbe bei den länger kultivierten Varietäten angenehm aromatisch, beinahe alkoholisch. Wenn also die untersuchte Art mit der von Duclaux beschriebenen identisch ist, hat sich dieselbe durch Weiterzüchten veredelt.

Aehnlich wie bei T. tenuis ließen sich auch bei T. urocephalum verschiedene Varietäten unterscheiden, von denen die einen

stark gärend, die anderen stark peptonisierend wirkten, und die auch auf Agar und Kartoffeln deutliche Unterschiede zeigen. Die stark gärende Varietät bildete auch hier auf Gelatineplatten flechtenartige, lange nicht verflüssigende Kolonieen. Dieselbe zeigt das kräftigste Wachstum, sowohl in Gelatine als auf Kartoffel. Nach 1 Jahr, auf Agar kultiviert, zeigt sich ihr Verflüssigungsvermögen (also die Peptonisierungsstärke) bedeutend vermehrt, das Gasbildungsvermögen stark vermindert.

Tyrothrix distortus Ducl.

Duclaux charakterisiert dieses aërobe Bacterium dahin, daß es bei Milchkultur 0,9 μ breit und 5—10 μ lang wird, in isolierten jungen Stäbchen lebhaft beweglich, in größeren Ketten unbeweglich ist, die Milch zu dickflüssiger Gerinnung bringt und später wieder auflöst, indem es dieselbe in eine gelatinöse transparente Masse (wie Fleischsulze) verwandelt und dabei Sporen bildet. Kasease- und Lababscheidung sind in Milch mäßig stark, besser in Liebig's Bouillon, in welcher es gut gedeiht und bald zweierlei Sporen bildet. Sporenreihen in den langen Stäbchen und einzelne blassere Sporen in den kurzen Stäbchen. Endprodukte der Zersetzung sind Leucin, Tyrosin, valeriansaures, essigsaures und kohlensaures Ammonium. Milchzucker und Glycerin greift es nicht an und bildet kein Gas. Von T. filiformis unterscheidet Duclaux T. distortus hauptsächlich durch die dickeren Stäbchen und die verschiedene Entwickelung derselben, von T. geniculatus dadurch, daß es beweglich ist, daß die Stäbchen dicker sind und mehr körniges Protoplasma aufweisen. Die Stäbchen gehen bei 90—95°, Sporen bei 100—105° zu Grunde.

Eigene Beobachtungen. In Plattenkulturen (aus den Originalkulturen Duclaux') bildet T. distortus Kolonieen, die auf den ersten Anblick eine sehr wechselnde Form zeigen (Taf. II, Fig. 35—40). Dies rührt daher, daß sich die Stäbchenketten entweder zu dichteren oder dünneren Häutchen oder zu Strähnen zusammenlegen und einzelne Partieen derselben im Wachstum den übrigen weit voraneilen. Die Anfangsstadien stellen flechtenartige Auflagerungen oder glatte, rundliche, milchweiße Flecken dar; in der Folge entwickeln sich daraus gewöhnlich dünne, vielfach gefaltete Häutchen in Rosettenform, die meist nach einer oder mehreren Seiten in dünnen gerunzelten Hautfetzen oder gewundenen Zöpfen und Strähnen auseinanderflattern (Taf. II, Fig. 35—38). Von den Tiefenformen gehen entweder radiale Fadensträhne aus, die im Umkreise an einzelnen Stellen stärker wachsen und die Kolonieen mit einem Kreis oder Hof von kleinen Flecken und Strichen umgeben (Taf. II, Fig. 40) oder schlingenförmig (wie T. turgidus) in die Gelatine vordringen. Stark verflüssigend. Ein ähnliches Wachstum mit ausschwärmenden Strähnchenpartieen zeigt der Bacillus XVI von Adametz (Taf. II, Fig. 55). Die Stäbchen sind in Gelatine durchschnittlich 5 μ lang, 1 μ breit (in Milch dünner und bedeutend länger), zu langen verwickelten Fäden vereinigt und besitzen, wie schon Ducl. hervorhebt, ein sehr grobkörniges Protoplasma. Es hat den Anschein, als

ob dasselbe sich vor der Teilung in der Mitte der Stäbchen konzentrieren würde und nach der Teilung an den Enden der Fäden in größeren Körnern erschiene. Sporen meist von der Breite der Stäbchen (Taf. II, Fig. 41).

Stichkulturen (Taf. II, Fig. 59). Dieselben zeigen bei den verschiedenen Kolonieen und Wuchsformen keine bedeutenden Unterschiede, wachsen anfangs als dichte weiße Massen im Stichkanale, um dieselben bildet sich eine blaßweiße Verflüssigungszone und gehen einzelne stärkere Ausläufer wagrecht in die Gelatine. Die Verflüssigung schreitet rasch von oben nach unten fort. Reichlicher Zooglöenabsatz, dichte Haut an der Oberfläche. Keine Gasblasen. Die verflüssigte Gelatine alter Stichkulturen ist ganz dunkelbraun. In Fleischwasser-Pepton-Gelatine ist das Wachstum bedeutend rascher und üppiger, als bei Zusatz von Milchzucker und Glycerin.

Agar-Strichkultur. Graulichweißer, wachsglänzender Belag, an der Oberfläche punktiert, mit feingelapptem, transparentem Rande, breitet sich schnell (bei gewöhnlicher Temperatur in 3 Tagen) über die ganze Oberfläche aus. Abimpfungen von kompakten Kolonieen wachsen bedeutend langsamer und sind gröber punktiert.

Kartoffelkulturen. Wächst anfangs und an trockeneren Stellen in Form von reihenweise angeordneten kleinen Wachstropfen. Die Farbe ist anfangs gelblich-weiß, dann bräunlich, beim Eintrocknen weiß bestäubt.

Nach den Strich- und Stichkulturen stellen die verschiedengeformten Kolonieen auf der Platte nur verschiedene Wuchsformen dar, hauptsächlich durch eine verschiedene Ueppigkeit des Wachstums bedingt.

Von T. geniculatus läßt sich distortus außer durch die dünneren Stäbchen durch die Stichkulturen in gewöhnlicher Gelatine, von filiformis durch die Kartoffelkulturen unterscheiden, falls die Form der Kolonieen noch Zweifel übrig ließen.

Milchkulturen. Bei gewöhnlicher Temperatur wird aus der Milch das Kaseïn nicht gefällt und ohne Gärung in eine braungelbe transparente Flüssigkeit gelöst. Bei Brüttemperatur wird jedoch das Kaseïn unter Ausscheidung von weißlichem Serum kompakt gefällt und dann langsam aufgelöst. Alte Milchkulturen werden bei gewöhnlicher Temperatur dunkelbraun. Zum Unterschiede von T. tenuis und urocephalum entsteht in alten Milchkulturen später kein Niederschlag.

Tyrothrix filiformis Ducl.

Nach Duclaux. Aërob, Stäbchen 0,8 μ dick, beweglich. In Milch bildet es oberflächliche Häutchen aus verfilzten Fäden, Fetttröpfchen und ausgefälltem Kaseïn, später auch im Innern der Flüssigkeit Flocken. Die Sporen erreichen die doppelte Dicke der Stäbchen und verleihen derselben Kolben- oder Spindelform. Die Milch wandelt sich nach 2—3 Tagen fast plötzlich in eine leichtgetrübte Flüssigkeit um; manchmal, besonders bei höherer Temperatur, findet vorher Koagulation statt. Lab und Kasease scheinen ziemlich schwach zu sein. In der Milch finden sich zum Schlusse Leucin, Tyrosin, Harnstoff und

Ammoniumkarbonat, Ammoniumacetat und Ammoniumvalerianat. In Bouillon gedeiht dieses Bakterium viel besser, trübt dieselbe schon in wenigen Stunden und überzieht sie mit einem dichten sammetartigen Schleier. In Gelatine gedeiht es schlecht. Glycerin greift es nicht an und auch den Milchzucker in Milch scheint es ganz unverändert zu lassen. Sporen, die in Gelatine gebildet sind, sterben beim Erhitzen unter 110° ab, halten hingegen eine Temperatur von 120° durch 1 Minute aus, wenn sie aus Milch stammen. Die entwickelten Stäbchen überdauern in Milch eine Temperatur von 100° C, in sauren Flüssigkeiten gehen sie bei dieser Temperatur in 1 Minute zu Grunde.

Eigene Beobachtungen. Plattenkulturen. Auf den Platten, welche direkt aus den Original-Bouillonkulturen Duclaux' angelegt sind, erscheinen runde, mattweiße Kolonieen mit breiter, nebelartig getrübter Wuchs- und Verflüssigungszone, die sich zuweilen senkrecht zur Ebene der Platte und Kolonie stellt (Taf. II, Fig. 45 u. 46). Bei schwacher Vergrößerung zeigt sich diese Wuchszone aus feinen Strahlen oder spinnwebeartig verworrenen Fäden bestehend. Besonders breit und schön ist dieselbe auf gewöhnlicher Gelatine ausgebildet (Taf. II, Fig. 49); hier ist oft auch die dichtere Mitte der Kolonieen radialstrahlig. Auf Milchzuckergelatine ist der Strahlensaum ganz schmal, die Kolonie selbst ist dichter, weiß getrübt. Das Wachstum ist sehr üppig und die abfließenden Tropfen senden breite Lappen in die Gelatine; die Kolonieen verflüssigen rasch und zeigen breiten, klaren Verflüssigungshof.

Auf Platten, die aus älteren Abimpfungen in Gelatine angelegt wurden, wachsen die Kolonieen viel spärlicher, anfangs trocken, dicht, trübe, milchweiß, zu einer Breite von etwa 5—6 mm heran und erhalten dann eine breite Verflüssigungszone, die häufig in konzentrischen Ringen auftritt (Taf. II, Fig. 47 u. 48). Die dichte Zoogloea ist unregelmäßig gelappt.

Stäbchen zart, 3—5 μ lang und nicht ganz 1 μ breit, am kräftigsten auf Kartoffel, durch Weiterzüchten in Pepton-Gelatine werden sie zarter, in Milchzucker-Gelatine wieder kräftiger. Sie sind sehr beweglich, leicht vibrierend, zuweilen pendelnd, nicht schlängelnd. Sie bilden, in Gelatine gezüchtet, keine beständigen Fäden, sondern zerfallen in Fragmente zu 1, 2, selten bis 5 Stäbchen. In den Kolonieen auf der Platte sind sie nicht parallel gelagert, sondern stellen sich vielfach auf.

In Milchkulturen werden die Stäbchen öfter spindelförmig, clostridiumartig.

Sporen in Gelatine $1^1/_2$ μ lang und 1 μ breit, auf Kartoffel $1^3/_4$ bis 2 μ lang und $1^1/_2$—$1^3/_4$ μ breit.

Stichkulturen (Taf. II, Fig. 58). Verflüssigt die Gelatine sehr rasch meist sackartig, wächst in der Tiefe der Gelatine nur punktartig. In der Flüssigkeit bilden sich zahlreiche Flocken und an der Oberfläche eine dichte weiße Haut, von der ein dunkelgelber Farbstoff in die Flüssigkeit abgeschieden wird. Nach 8 Tagen treten Sporen auf.

In alter, daher konzentrierterer, dichterer Milchzuckergelatine

bilden sich Gasblasen; es entwickelt sich also durch den Einfluß des Nährbodens Gärungsvermögen.

Agarstrichkultur. Milchweißer, abfließender, dünnschleimiger, faltiger Belag, der rasch wächst.

Kartoffelkultur. Ueppiges Wachstum. Bei Brüttemperatur ist die Kartoffel binnen 24 Stunden von einer dicken, feingerunzelten, schneeweißen, später gelblichen Haut überzogen. Bei gewöhnlicher Temperatur entsteht binnen 48 Stunden eine dicke, mattweiße, runzelige und faltige Haut, die später rötlich wird. Kräftige Stäbchen und große Sporen.

Milchkultur. Bei Brüttemperatur gerinnt die Milch nach 2—3 Tagen, dann wird sie langsam vollständig gelöst. Keine Gasentwickelung. Bei gewöhnlicher Temperatur gerinnt die Milch nicht, sondern wird langsam in eine transparente gelbliche Flüssigkeit gelöst (peptonisiert).

Wie bei T. tenuis No. 1 entwickelt sich auch hier das Labferment erst in der Wärme merklich. 3-jährige eingetrocknete Milchkulturen zeigen ein sehr gesteigertes Peptonisierungsvermögen.

Tyrothrix geniculatus Duclaux.

Nach Duclaux. Stäbchen 1 μ breit, unbeweglich. Bilden bei Luftzutritt in Milch lange, geknickte und gekrümmte, verwickelte Fäden, jedoch kein Oberflächenhäutchen. Das Protoplasma zeigt ein anfangs fein, später grob granuliertes Aussehen. In der Tiefe der Flüssigkeit bleiben die Stäbchen kurz und gehen bald zu Grunde. Sporenbildung tritt besonders an der Oberfläche ein. Milch scheint für dieses Bakterium kein besonders günstiger Nährboden zu sein. In Bouillon gedeiht es besser, bildet schwimmende Flocken, trübt aber die Flüssigkeit nicht. Lab und Kasease werden von ihm in geringerer Menge gebildet als von den übrigen Arten. Bei höherer Temperatur wird mehr Lab abgeschieden und ein schwaches Gerinnsel gebildet. Milchkulturen zeigen nach einiger Zeit alkalische Reaktion infolge Bildung von Ammoniumkarbonat. Außerdem werden Leucin, Tyrosin, Ammoniumvalerianat und geringe Mengen von A.-Acetat gebildet und ein bitterer Stoff abgeschieden. Die Zersetzung der Milch geht um so rascher vorsich, je mehr Luft zutritt. Zucker und Glycerin werden von dieser Art nicht angegriffen. Beim Erhitzen gehen die Stäbchen in fast neutraler Milch schon bei 80° sehr bald zu Grunde; die Sporen ertragen 100° ganz kurze Zeit, werden bei 105° stark abgeschwächt und sterben bei 110° sofort ab.

Eigene Beobachtung. Kolonieen mattweiß, wollflockenartig, konzentrisch mit blassem Saume wachsend, mit Verflüssigungszone, 4—9 mm breit (Taf. II, Fig. 43). Bei schwacher Vergrößerung erscheinen sie seidenglänzend, aus parallel gelagerten und wiederum unter einander gewirrten Scheinfäden bestehend. Die Fäden, welche in der Tiefe der Gelatine wachsen, setzen sich aus 6—10 μ langen und 1—$1^1/_2$ μ breiten Stäbchen zusammen; wo dieselben an die Oberfläche treten, sind die Individuen blasig aufgetrieben, 3—4 μ lang und 2 μ breit (Taf. II, Fig. 42). Sporen treten schon auf der Platte auf, sind $1^1/_2$ μ lang und 1 μ breit. Unter Umständen werden

die Stäbchen 20—40 μ lang, wie in einer Kolonie auf gewöhnlicher Gelatine, die beinahe das Aussehen einer Oïdiumkolonie besaß (Taf. II, Fig. 44) und in regelmäßigen ästigen Strahlen wuchs.

Die Kolonieen zeigen in allen Plattenkulturen auf gewöhnlicher und auf Milchzuckergelatine, auch nach längerer Kultur in Milchzuckergelatine, das gleiche Aussehen.

Stichkulturen (Taf. II, Fig. 61). In Fleischwasser-Peptongelatine tannenbaumartig wachsend (ähnlich wie Bac. ramosus), um den Stich mit vielfach verzweigten büscheligen Aesten, verflüssigt die Gelatine in 8—10 Tagen vollständig. Auf Milchzuckergelatine im Stiche punktförmig wachsend und langsam schichtweise verflüssigend. In manchen Kulturen ein ganz ähnliches Wachstum wie in gewöhnlicher Gelatine mit kurzen, büschelförmigen Aesten.

Agarstrichkultur. Dicke, milchweiße, glänzende Auflagegerung mit paralleler Schichtung und feingekerbtem Rande.

Kartoffelkultur. Mattgrauweiße Auflagerung mit traubiger Oberfläche und grobgekerbtem Rande.

Stäbchen in der Kartoffelkultur kurz und dick, Sporen sehr groß, 2—3 μ lang und über 1 μ breit.

Bei Brüttemperatur kommt die Milch zuerst zu einer lockeren, gallertigen Gerinnung und wird dann von oben nach unten zu einer klaren, gelben Flüssigkeit gelöst. Gasentwickelung findet dabei nicht statt. Reaktion amphoter.

Tyrothrix scaber Ducl.

Nach Duclaux sind die Stäbchen dieser Art im jugendlichen Zustande ziemlich kurz, aber 1,1—1,2 μ breit, ziemlich starr und nur schwerfällig beweglich. Selbst die jungen Stäbchen besitzen schon ein fein granuliertes Aussehen: vor der Sporenbildung verschwindet die Granulation und es entstehen dann oft mehrere Sporen in einem Stäbchen. In Milch bietet dieses Bakterium bald ein Oberflächenhäutchen, das aus kurzgliedrigen, rosenkranzartigen, losen Ketten besteht, die nur teilweise zur Sporenbildung gelangen. Die Milch scheint danach kein sehr günstiger Nährboden für dieses Mikrob zu sein; besser gedeiht es in Gelatine und Bouillon, wo es auch größer und dicker wird und regelmäßig Sporen bildet. Es ist aërob, verbraucht O und erzeugt CO_2. Das Kaseïn der Milch wird von ihm nur langsam und allmählich, zum Schlusse in Leucin, Tyrosin, Ammoniumkarbonat und -valerianat umgeändert; ein Teil desselben bleibt immer unverändert. Die Reaktion der umgewandelten Milch ist alkalisch. Besser noch gedeiht es in Stickstoffkulturen, die schon durch andere Organismen verändert sind. Auch im Käse entwickelt sich T. scaber erst, nachdem andere Bakterienarten vorgearbeitet haben. Es greift aber auch Milchzucker und Rohrzucker an. In Stäbchenform geht es bei 90—95 °, im Sporenzustande bei 105 bis 110 ° in 1 Minute zu Grunde.

Plattenkulturen. Auf Fleischwasser-Peptongelatine sind die Kolonieen milchweiße, dickflechtenartige Auflagerungen mit unregelmäßig gelapptem und ausgefranstem Rande (Taf. I, Fig. 30 und 31), auf der Oberfläche feingerunzelt und grubig. Nach 4—6 Tagen

bildet sich eine breite Verflüssigungszone und die Kolonieen bilden in der Flüssigkeit dünne Häutchen, die sich öfter zusammenrollen und im ganzen von der Gelatine abheben lassen. Vor dem gänzlichen Zerfließen werden die Kolonieen bis ein cm breit. Sie bestehen aus verworrenen, vielfach gebogenen und gewundenen Fäden von 2 und 4 μ langen Stäbchen, die beim Zerfallen der Fäden meist in Gruppen von 3, 5 und 6 vereinigt bleiben und manchmal außerordentlich lang werden (Taf. I, Fig. 34). Die Stäbchen sind unbeweglich. Auf der Milchzuckergelatine sind die Kolonieen ebenfalls flechtenartig, bleiben jedoch kleiner, bis 3 mm breit, verflüssigen die Gelatine. (Taf. I, Fig. 32.) Die Stäbchen sind in Peptongelatine dicker und kräftiger als in Milchzuckergelatine. Sporen finden sich in Gelatinestichkulturen schon nach 14 Tagen; sie sind länglich, 2 μ lang, 1,5 μ breit.

Stichkulturen (Taf. I, Fig. 33). Stich ganz mit feinen, moosartigen Ausläufern besetzt, oft spärlich wachsend, verflüssigt die Gelatine langsam schichtenweise.

Agarstrichkultur. Feuchtglänzender, gerunzelter Belag von blaßgelblich-grauer Farbe und üppigem Wachstume.

Kartoffelkultur. Dicke, schmierige, schmutzig gelblichweiße, feuchtglänzende, traubige Auflagerung.

Milchkultur. Löst die Milch langsam zu einer braungelben, transparenten Flüssigkeit auf, ohne sie vorher zur Gerinnung zu bringen. Bei Abimpfung von Fleischwasser-Peptongelatine geht die Peptonisierung rascher vor sich, als bei Abimpfung von Milchzuckergelatine.

Tyrothrix turgidus Ducl.

Nach Duclaux. Ueppige Stäbchen, ungefähr 1 μ dick und 2—3 μ lang, ausgesprochen aërob. In der Milch entstehen lange Fäden, die sich verwickeln und verfilzen und an der Oberfläche in Verbindung mit eingelagerten Eiweißsubstanzen ein Häutchen bilden. Die Fäden bestehen aus kurzen Stäbchen, die kaum länger sind als breit und bald Sporen bilden. Die Milch wird bei niederer Temperatur in eine transparente gelbliche Flüssigkeit verwandelt, bei höherer Temperatur zuerst schwach koaguliert. Lab und Casease wirken hier schwächer als bei den übrigen Tyrothrixarten. Dabei wird Sauerstoff verbraucht und zu Kohlensäure verbrannt. Zum Schlusse hat die Milch eine alkalische Reaktion und enthält kohlensaures Ammonium, während der Zersetzung auch buttersaures Ammonium, das aber nachträglich mehr und mehr verbrannt wird. Ein Teil der Eiweißstoffe verwandelt sich in Leucin und Tyrosin. Der Milchzucker bleibt ganz unverändert. In Stärke und Glycerin gedeiht dieses Bakterium schlecht. Milchsauren Kalk verschmäht es und das Fett in der Milch verändert es nicht. Im ausgewachsenen Zustande geht es schon bei 80°, in Sporenform erst bei 115° C zu Grunde.

Eigene Beobachtungen. Plattenkulturen. Rosettenförmige, weiße, seidenglänzende Kolonieen, die bei schwacher Vergrößerung entweder ein wolliges Aussehen zeigen oder zerknittertem Seidenpapiere ähneln (Taf. II, Fig. 51). Die Stäbchen sind in denselben zu langen Fäden verbunden. Bei der Ausbreitung der Kolonieen

schieben sich von Anfang Fadenschlingen in die Gelatine (Taf. II, Fig. 52 u. 53), erst wenn am Rande Verflüssigung eingetreten ist, wenden sich die Spitzen der Fäden nach auswärts. In der blasseren Randzone bestehen die Fäden aus langen, dünnen, 8—10 μ langen, $1^1/_4$ μ breiten, in der Mitte aus kurzen, dicken Stäbchen von $1^1/_2$—2 μ Durchmesser, die noch viel breitere Involutionsformen bilden. An den Kolonieen, welche in der Tiefe der Gelatine wachsen, zeigt sich sehr schön die parallele Lagerung und regelmäßige, schlingenförmige Anordnung der Fäden. Die Kolonieen erreichen meist eine Ausdehnung von 5—7 mm, oberflächlich wachsend aber bis 2 cm, werden schmierig und verflüssigen stark. Die Stäbchen zeigen 1, 2 oder 3 Protoplasmakerne. Dieselben scheinen bei oder vor der Teilung der Stäbchen ebenfalls eine Teilung durchzumachen. Sporen in den langen Stäbchen 1—$1^1/_4$ μ breit, 2 μ lang.

Stichkulturen (Taf. II, Fig. 60). Wächst im Stiche in zerstreuten Inseln, die gewöhnlich ein strahliges oder flockiges Aussehen bekommen. Die Verflüssigung schreitet langsam von oben nach unten in der ganzen Breite fort. Weiße Oberflächenhaut.

Agarstrichkultur. Dicker, gelblicher Belag, fettglänzend, Oberfläche grobkörnig, Rand unregelmäßig gelappt.

Auf Kartoffel. Spärliches Wachstum. Matter, weißer Ueberzug mit gekerbtem Rande.

Milchkultur. Wie oben nach Duclaux beschrieben. Lösung wird später braun. Bei gewöhnlicher Temperatur wirkt T. turgidus stärker peptonisierend als T. scaber, aber viel schwächer als T. filiformis.

Bacillus XVI Adametz.

Dieses Bakterium, welches Adametz im Jahre 1888 aus Emmenthaler Käse isolierte, gehört sowohl nach seinem gegenwärtigen Verhalten in Milch, als auch nach seiner Wachstumsweise auf verschiedenen anderen Nährböden unzweifelhaft zu den Tyrothrixarten. Hier interessiert uns dasselbe hauptsächlich deshalb, weil es durch die Weiterzüchtung in Gelatine seine Wirkungsweise in Milch vollständig geändert hat; die Milchsäureproduktion, welche Adametz an ihm beobachtete, hat dasselbe gänzlich eingebüßt und löst nun die Milch ziemlich rasch zu einer bräunlichen, transparenten Flüssigkeit mit alkalischer Reaktion auf. Nach Adametz[1]) bildet diese Bakterienart 1,2 μ breite und etwa 4—5 μ lange Stäbchen, die häufig in außerordentlich lange Fäden auswachsen und andererseits wieder clostridium artige Involutionsformen bilden. Die Stäbchen haben ihre Dimensionen ziemlich beibehalten; sie sind vielleicht etwas üppiger geworden. Lang und fadenförmig werden dieselben in älteren Gelatinekulturen; in frischer Milch sind sie meist 16 μ lang und zu langen Fäden verbunden (Taf. II, Fig. 57). Wie bei vielen Tyrothrixarten zeigt das Protoplasma ein körniges Aussehen. Sporen bilden sich in der Mitte der Stäbchen, ohne dieselben blasig aufzutreiben und sind

1) Bakteriologische Untersuchungen über den Reifungsprozeß der Käse. (Landw. Jahrbücher. XVIII. 1889.)

$1\frac{1}{2}$—2 μ lang. Kolonieen auf Pepton-Gelatineplatten, die ich im Jahre 1891 anlegte, ließen noch ganz gut die von Adametz beschriebene haarwirbelartige Form mit üppigem verflüssigendem Wachstume erkennen. Fig. 55, Taf. II zeigt eine solche Kolonie. Von der haarwirbelartigen oder wollflockenartigen Mitte gehen häufig lange schlangen- und zopfförmige, zuweilen jedoch auch feine dendritische Ausläufer, wie sie Adametz beschreibt, aus, in dieser Beziehung an T. distortus erinnernd. An manchen Kolonieen waren einige Abänderungen zu bemerken. Auf Pepton-Gelatineplatten, welche ich in diesem Jahre (1895) anlegte, zeigten die Kolonieen ein noch üppigeres Wachstum, und nur einerlei, von der vorher beschriebenen etwas abweichenden Form (Taf. II, Fig. 56). Sie ähnelten stark den Kolonieen gewisser Oïdiumarten und erreichten schon in 4 Tagen einen Durchmesser von 3 cm; die Gelatine wurde ziemlich rasch verflüssigt. An den Stichkulturen in Peptongelatine konnte ich ein charakteristisches bürstenförmiges Wachstum beobachten (Taf. II, Fig. 62), ähnlich wie es bei Bac. mycoides auftritt. Rings um den Stichkanal gehen lange, zarte, dichtgestellte Ausläufer in die Gelatine, die nach und nach erweicht und später vollkommen verflüssigt wird. Die Tendenz zu diesem Wachstume scheint schon die von Adametz angelegte Stichkultur in Agar gehabt zu haben. Rasche, um den Stich in Peptongelatine vor sich gehende Verflüssigung beobachtete auch Adametz. Auf Agar entsteht ein mattweißer, mäßiger, auf saurer Kartoffel ein spärlicher, bräunlichgelber, schleimiger Belag. Die Milchkulturen zeigen, wie schon oben erwähnt, ein ganz verändertes Aussehen; aus einem vorwiegend oder ausschließlich Milchsäure produzierenden ist durch Anpassung ein stark peptonisierendes Bakterium geworden.

Bakteriologische Untersuchung des Cantalkäses.

Um die Tyrothrixarten im Cantalkäse selbst aufzusuchen, wurden aus einem solchen 11 Platten angelegt. Bei der Analyse derselben ließen sich zwar Tyrothrixarten nachweisen und insbesondere T. tenuis und T. scaber erkennen, aber an Menge waren dieselben sehr untergeordnet, betrugen im günstigsten Falle 15—20 Proz. aller Keime und erzeugten auf der Platte nur schwach entwickelte, flechtenartige Kolonieen. Es wiesen übrigens die Proben, namentlich vom Rande, eine große Mannigfaltigkeit an Arten auf; verschiedenfarbige Kolonieen von Pediokokken, von denen eine Art mit breiten, citronengelben Kolonieen überwog, machten manche Platte ganz bunt. Besonders auffallend war das Auftreten zahlreicher Schimmelpilze, selbst aus der Mitte des Käses; darunter waren konstant ein Mucor und 6—7 Penicilliumarten vertreten. Die Anzahl der Schimmelkeime betrug in der Mitte des Käses annähernd 50000 pro 1 g und machte 2—10 Proz. aller Keime aus. Die Zusammensetzung der Bakterienflora des Cantalkäses ist aus der Bereitungsweise zu erklären. Der Bruch desselben wird nämlich vor dem Formen lange gründlich durchgeknetet, darauf einer eigenen Vorgärung überlassen, dann von neuem zerkleinert und in Formen gepreßt. Da er bei dieser Manipulation mit der Luft vielfach in Be-

rührung kommt, läßt sich daraus der große Gehalt an Schimmelpilzen und verschiedenen Bakterienarten erklären und würde es verständlich machen, daß die Tyrothrixarten trotz Aërobiose auf die Reifung dieses Käses von Einfluß sind. Aus der Bereitungsweise läßt sich nicht voraussetzen, daß die Reifungsvorgänge im Cantalkäse denen im Emmenthalerkäse gleichen müssen, trotzdem auch der Cantalkäse zu den Hartkäsen zu zählen ist, wie es Fleischmann und Kirchner thun, und nicht, wie v. Freudenreich behauptet, zu den Weichkäsen.

Leider wurde die von Freudenreich vorgeschlagene Methode, die Tyrothrixarten leichter aufzufinden, nämlich eine Emulsion des zerriebenen Käses durch 5 Minuten auf 85° C zu erwärmen, nicht angewendet. Dieselbe hätte wahrscheinlich bessere Resultate geliefert.

Versuchskäse.

Um den Einfluß der Tyrothrixarten auf die Käsereifung zu prüfen, wurde eine größere Anzahl (23) kleine Versuchskäse aus je 2 Liter Milch oder Magermilch hergestellt und derselben vorher etwa 2 Proz. einer 3—10 Tage alten Milchreinkultur den betreffenden Bakterien zugesetzt. Selbstverständlich wurden gleichzeitig auch immer Kontrollkäse angefertigt. Die Käse wurden nach Art der Hartkäse gearbeitet und ziemlich stark gepreßt. Versucht wurden 3 Varietäten (No. 1, 4 und 6) von T. tenuis (12 Käse), 2 Varietäten von T. urocephalum (7 Käse), T. filiformis (1 Käse), T. distortus (1 Käse), Bac. XVI Adz. (2 Käse). Die Reifung dauerte 8—12 Wochen. Die Ergebnisse derselben sprechen deutlich dafür, daß die peptonisierenden Arten die Reifung befördern, abgesehen davon, daß, wie natürlich, die einzelnen Arten den Geschmack in verschiedener Weise beeinflussen. In erster Linie erschien die Reifung durch T. urocephalum, namentlich die stark peptonisierende Form, entschieden beschleunigt, der Geschmack in günstiger Weise beeinflußt und die Farbe des Teiges mehr gelblich. Der Käse war nicht bitter und angeschnitten selbst nach mehreren Monaten nicht ranzig. Eine Verbesserung des Geschmackes trat besonders bei Magerkäsen hervor. Von den Varietäten von T. tenuis wirkte die stark peptonisierende Form No. 1 ähnlich, erzeugte außerdem eine stärkere Lochbildung (nicht Blähung); bei den gärenden Varietäten No. 4 und 6 machte sich ebenfalls eine stärkere Lochung der Käse bemerkbar, doch blieb die Reifung gegen No. 1 zurück. T. filiformis schien die Reifung nicht zu beschleunigen, hingegen die Lochbildung zu vermehren; der Käse erhielt beim Aelterwerden einen ranzigen, scharfen Geschmack. Auch T. distortus wirkte bei dem Versuchskäse nicht günstig; desgleichen zeigten die 2 Versuchskäse, die einen Zusatz von Bac. XVI Adz. erhalten hatten, hierdurch keine Verbesserung; die Reifung war etwas befördert, die Käse aber schmierig und bitter. Abgesehen von den 4 letzten Versuchen, deren Zahl für eine Schlußfolgerung zu gering ist, ergiebt sich daraus Folgendes:

1) Gewisse peptonisierende Bakterien (in unserm Falle also T.

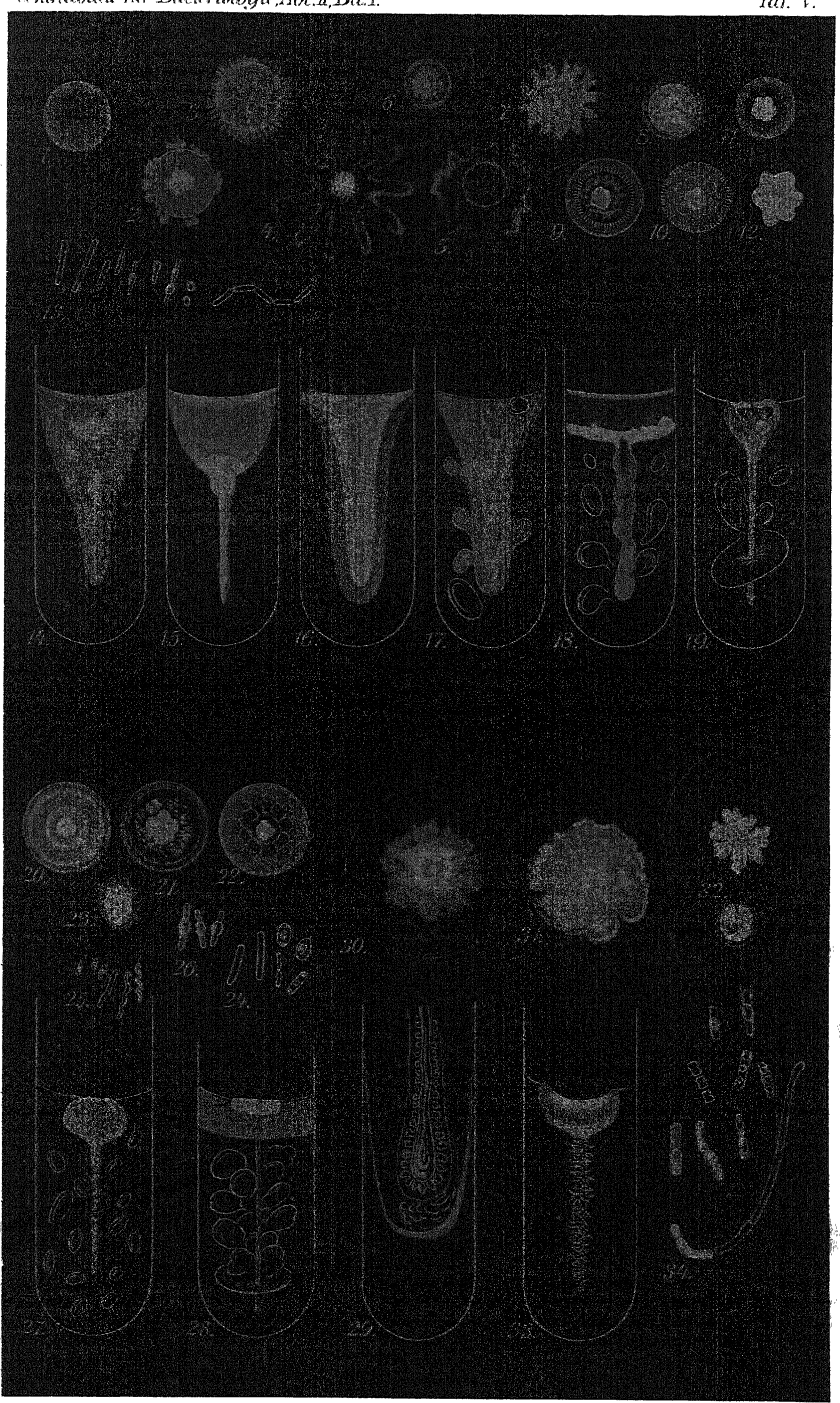
urocephalum und T. tenuis) befördern auch bei Hartkäsen ganz wesentlich die Reifung, d. h. also die Umwandlung des Kaseïns in lösliche Eiweißverbindungen. 2) Dieselben können sich unter Umständen auch an der Lochbildung beteiligen. — Bei den Versuchen kann allerdings der Einwurf gemacht werden, daß mit den Milchkulturen auch abgeschiedenes Peptonisierungsferment (Kasease) zugesetzt wurde und die Reifung auch diesem zugeschrieben werden kann. Bis zu einem gewissen Grade mag dies zutreffen; dann aber sind es wieder die peptonisierenden Bakterien, welche dieselbe erzeugten und es ist (abgesehen davon, daß mir die Menge der in jungen Milchkulturen vorhandenen Kasease zu gering erscheint) doch nicht ausgeschlossen, daß die zugesetzten Tyrothrixarten im Käse weiterwirken, namentlich in der ersten Zeit, solange der Käse noch nicht ganz fest ist. T. urocephalum ist fakultativ anaërob und auch T. tenuis scheint mir in Milch bei Luftabschluß ganz gut zu gedeihen und zeigt dann starke Gasentwickelung. Peptongelatine- oder Bouillonkulturen sind allerdings als Zusatz zum Käse nicht zu verwenden, weil, wie oben gezeigt wurde, diese Nährböden die Wirkungsfähigkeit der Tyrothrixarten in Milch stark beeinträchtigen. Beurteilt man die Wirkung der Bakterien nach ihrer Vermehrung und ihrem Fortgedeihen im Versuchskäse, so hat man jedenfalls darauf Rücksicht zu nehmen, daß sich die Bakterien im Versuchskäse verändern und dann andere Wachstumserscheinungen zeigen, als vorher. Bei den Tyrothrixarten ist dies kaum zu bezweifeln. Bei Untersuchung eines 3 Monate alten Versuchskäses von T. tenuis var. No. 4 zeigten die Kolonieen auf den Platten ein sehr spärliches Wachstum und bestanden fast ausschließlich aus Stäbchenbakterien, die wohl zum größten Teile zu T. tenuis gehörten; unter den Kolonieen ließen sich charakteristische von T. tenuis var. No. 2, No. 4 und No. 6 erkennen, was also auch darauf hinweist, daß die eingeimpfte Art im Käse bedeutende Aenderungen erfahren hat. Aus einem Versuchskäse von T. urocephalum erhielt ich vorwiegend milchweiße runde verflüssigende Kolonieen, die eigentümliche unregelmäßige Langstäbchen (verkümmerte Urocephalumstäbchen?) enthielten, daneben nur vereinzelt charakteristische Kolonieen von T. urocephalum.

Allgemeinere Resultate.

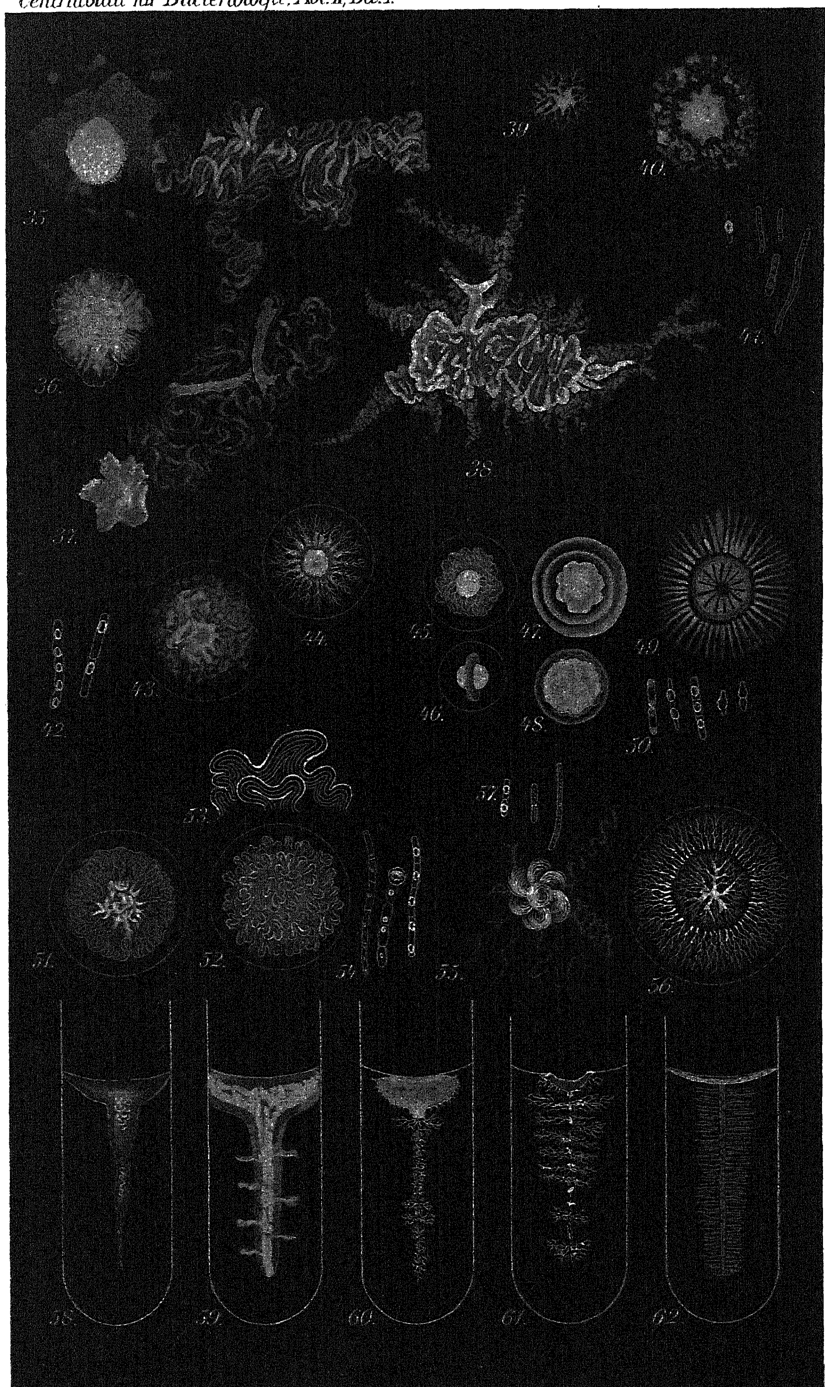
1) Aus der Beschreibung der Tyrothrixarten ergiebt sich, daß sich einige (T. tenuis) mehr an die Heu- und Kartoffelbacillen, andere (T. urocephalum, T. filiformis) mehr an die aërob oder fakultativ aërob wachsenden Granulobakterarten anschließen. Sie besitzen große Anpassungsfähigkeit an verschiedene Nährböden und ändern dabei leicht ihre Eigenschaften. In Milch wirken alle mehr oder minder peptonisierend. Buttersäurebildung ist nur bei einzelnen unter Umständen wahrzunehmen.

2) Milchzucker befördert bei den meisten das Wachstum, scheint aber das Peptonisierungsvermögen zu beeinträchtigen.

3) Von Tyrothrix tenuis wurden verschiedene Varietäten herauskultiviert, von denen die extremsten sind: 1) eine die Milch



Winkler gez. Verl. v. Gustav Fischer, Jena. Lith. Anst. v. A. Giltsch, Jena


35.
39.
40.
41.
36.
38.
37.
44.
45.
47.
49.
42.
43.
46.
48.
50.
52.
53.
51.
52.
54.
55.
56.
58.
59.
60.
61.
62.



stark peptonisierende, die Gelatine verflüssigende Form, 2) eine Milchsäure produzierende, stark gärende, Milchzuckergelatine nicht verflüssigende Form, 3) eine fluorescierende, auf Kartoffel einen roten Farbstoff produzierende Form. Es differenziert sich also hier eine Bakterienart durch fortgesetzte Züchtung in ein peptonisierendes, ein (zwar nicht ausschließliches) Milchsäurebakterium und ein Pigmentbakterium.

4) Die Umwandlung von Bac. XVI. Adz. giebt uns ein Beispiel von der Verwandlung eines Milchsäurebakteriums in ein peptonisierendes Bakterium.

5) Von den Tyrothrixarten erwiesen sich besonders T. urocephalum und die peptonisierende Art von T. tenuis als die Käsereifung und Lochung begünstigend. Es können also auch peptonisierende Bakterien an der Lochbildung im Käse Anteil haben.

6) Daß bei der Käsereifung vermutungsweise die peptonisierenden Bakterien die Hauptrolle spielen, bei der bakteriologischen Untersuchung der reifen Hartkäse aber immer Milchsäurebakterien in beiweiten überwiegender Zahl hervortreten, ist möglicherweise so zu erklären, daß gewisse peptonisierende Bakterien sich im Käse in Milchsäurebakterien verwandeln, resp. die Eigenschaft der Milchsäurebildung stärker entwickeln. Außer dem Verhalten von T. tenuis und T. urocephalum spricht auch dasjenige von Bac. XVI Adz. aus dem Emmenthaler Käse dafür.

Tafelerklärung.

Fig. 1. Tyrothrix tenuis var. 1, Kolonie auf Pept.-Gel., 6 mm.
Fig. 2. T. tenuis var. 2, auf Pept.-Gel.-Platte aus der Originalkultur, 4 mm.
Fig. 3. T. tenuis var. 2, Form b, auf Pept.-Gel., 5 mm.
Fig. 4. T. tenuis var. 2, Form a, auf Pept.-Gel.
Fig. 5. T. tenuis var. 3 auf Pept.-Gel.
Fig. 6. T. tenuis var. 3, Kolonie von Milchz.-Gel.-Platte, 2. Kultur, nach 2 Tagen, 3 mm.
Fig. 7. T. tenuis var. 3, 2. Kultur, Kolonie von Milchz.-Gel. nach 3 Tagen.
Fig. 8. T. tenuis var. 4, aus der Originalkultur auf Pept.-Gel.
Fig. 9. T. tenuis var. 4, Kolonie auf Pept.-Gel., 5 mm.
Fig. 10. T. tenuis var. 4, 2. Kultur, Kolonie auf Milchz.-Gel. nach 8 Tagen, 6 mm.
Fig. 11. T. tenuis var. 5, Kolonie aus der Originalkultur auf Pept.-Gel., 3 mm.
Fig. 12. T. tenuis var. 6, Kolonie auf Pept.-Gel., 3 mm.
Fig. 13. T. tenuis, Stäbchen und Sporen.
Fig. 14. T. tenuis var. 1, Stichkultur in Pept.-Gel.
Fig. 15. T. tenuis var. 2, Stichkultur in Pept.-Gel. am 5. Tage.
Fig. 16. T. tenuis var. 3, Stichkultur in Pept.-Gel. am 5. Tage.
Fig. 17. T. tenuis var. 3, Stichkultur in Pept.-Gel. am 10. Tage.
Fig. 18. T. tenuis var. 4, Stichkultur in Pept.-Gel. am 24. Tage.
Fig. 19. T. tenuis var. 6, Stichkultur in Pept.-Gel. am 16. Tage.
Fig. 20. T. urocephalum, Kolonie auf Milchz.-Gel. am 10. Tage, 14 mm.
Fig. 21. T. urocephalum, Kolonie auf Milchz.-Gel. und auf Pept.-Gel. am 10. Tage, 11 mm.
Fig. 22. T. urocephalum, Kolonie auf Milchz.-Gel. am 10. Tage, 11 mm.
Fig. 23. T. urocephalum, Kolonie auf Milchz.-Gel. am 10. Tage, $2^1/_2$ mm.
Fig. 24. T. urocephalum, Stäbchen auf Milchz.-Gel. aus der Originalkultur.
Fig. 25. T. urocephalum, Stäbchen und Sporen auf Pept.-Gel.
Fig. 26. T. urocephalum.
Fig. 27. T. urocephalum, Stichkultur in Pept.-Gel. am 6. Tage.
Fig. 28. Dieselbe Kultur am 24. Tage.

Fig. 29. T. tenuis (und T. urocephalum), Strichkultur auf Agar.
Fig. 30. T. scaber, Kolonie auf Pept.-Gel. am 8. Tage, 6 mm.
Fig. 31. T. scaber, Kolonie auf Pept.-Gel. am 6. Tage, 4 mm.
Fig. 32. T. scaber, Kolonieen auf Milchz.-Gel., $2^1/_2$ mm.
Fig. 33. T. scaber, Stichkultur in Pept.-Gel.
Fig. 34. T. scaber.
Fig. 35—40. Kolonieen von T. distortus.
Fig. 41. T. distortus.
Fig. 42. T. geniculatus nach längerer Kultur in Milchz.-Gel., Stäbchen mit Sporen.
Fig. 43. T. geniculatus, Kolonie auf Pept.-Gel. aus der Originalkultur, 4 mm.
Fig. 44. T. geniculatus, Kolonie auf Pept.-Gel., abgeimpft von Milchz.-Gel.-Kultur, 7 mm.
Fig. 45, 46. T. filiformis, Kolonie auf Pept.-Gel., Originalkultur-Platte.
Fig. 47, 48. T. filiformis, Kolonie auf Pept.-Gel. und Milchz.-Gel. nach Kultur in Pept.-Gel., 6 mm.
Fig. 49. T. filiformis, Kolonie auf Pept.-Pl. aus der Originalkultur, 12 mm.
Fig. 50. T. filiformis.
Fig. 51. T. turgidus, Kolonie auf Pept.-Gel., vergr.
Fig. 52. T. turgidus, Kolonie auf Pept.-Gel. von der Oberseite, vergr.
Fig. 53. Ein Teil derselben Kolonie mehr vergrößert.
Fig. 54. T. turgidus.
Fig. 55. Bac. XVI Ad., Kolonie auf Pept.-Gel. nach 4-jähr. Züchtung in Pept.-Gel., vergr.
Fig. 56. Bac. XVI Ad., Kolonie auf Pept.-Gel. nach 7-jähr. Züchtung in Milch u. Gel., natürl. Gr.
Fig. 57. Bac. XVI Ad.
Fig. 58. T. filiformis, Stichkultur in Pept.-Gel. nach 24 Stunden.
Fig. 59. T. distortus, Stichkultur in Pept.-Gel. nach 3 Tagen.
Fig. 60. T. turgidus, Stichkultur in Pept.-Gel. nach 3 Tagen.
Fig. 61. T. geniculatus, Stichkultur in Pept.-Gel.
Fig. 62. Bac. XVI Ad., Stichkultur in Pept.-Gel.

Ueber die Granulierung der Hefezellen.

von

Dr. Siddy Eisenschitz

in

Wien.

Die Körnelung in dem Protoplasma einzelliger Individuen ist seit langem Gegenstand der Aufmerksamkeit sowohl der Botaniker als auch der Zoologen, und durch die geistvolle Bioblastentheorie Altmann's ist die Frage nach der Bedeutung der Granula wieder in den Vordergrund des Interesses getreten.

Ich habe mich bestrebt, das Wesen der Granulierung bei gewissen Zellindividuen zu untersuchen und habe einige hierher gehörige Resultate bereits in meiner Inauguraldissertation[1]) niedergelegt. Ich möchte mir nun erlauben, hier die Frage nach dem Wesen der Granula in den Hefezellen kurz zu besprechen, und jene Ansichten mitzuteilen, zu welchen ich im Laufe meiner Studien gekommen bin.

---

1) Beiträge zur Morphologie der Sproßpilze. Inauguraldissertation von Siddy Eisenschitz, vorgelegt der hohen philosophischen Fakultät der Universität Bern. 1895.

Doch will ich im vorhinein bemerken, daß ich den Schlußfolgerungen, welche ich ziehe, vorläufig ausschließlich in Bezug auf die Saccharomyceszellen Geltung zuschreiben möchte; weitere Untersuchungen werden vielleicht Aufschluß darüber geben, ob den anderweitig vorkommenden Granulationen eine ähnliche Dignität zuzuschreiben ist.

Raum[1]) hat die Körnchen wohl bei allen Hefearten, aber keineswegs in jeder Hefezelle gefunden; er schreibt ihnen eine halbflüssige Konsistenz zu, hält sie für membranlos und giebt an, daß sie unter temporärem Verluste ihrer sphärischen Form ihren Platz verlassen können.

Da er in den wohlernährten, Gährung unterhaltenden Zellen vollkommen deutliche Granula, in den schlecht ernährten oder senilen Formen die Granula nur in geringer Zahl oder gar nicht fand, so hält er die Granula für ein Merkmal von Zellen, welche sich in sehr günstigen Lebensverhältnissen befinden und auf der Höhe ihrer Lebensthätigkeit stehen, und faßt sie als eigentümlich modifizierte Körner des Zellprotoplasmas, also als paraplasmatische Einschlüsse auf, welche sowohl unter einander konfluieren, als auch für sich an Größe zunehmen können.

Uebrigens ist das Vorkommen von Körnchen im Plasma einzelliger, selbständig lebender Organismen nichts Seltenes.

Schmitz[2]) fand im Protoplasma der Phycochromaceen kleinere und größere Körnchen in sehr wechselnder Menge verteilt, welche durch Färbungsmittel eine dunklere Farbe annahmen und sich gegen Hämatoxylin ganz ähnlich verhielten, wie die Chromatinkörper der Zellkerne. Diese Angaben wurden von Strasburger[3]) bestätigt.

Zacharias[4]) beschreibt ebenfalls im Zellplasma von Tolypothrix aegagropila glänzende Körnchen, welche besonders dicht um den Zellkern herum angehäuft waren.

In verschiedenen Bakterienarten und manchen anderen kryptogamischen Pflanzen fand P. Ernst[5]) „sporogene Körner" und erklärte sie für Zellkerne, denen die Fähigkeit zukommt, selbst zu Sporen zu werden. Neißer[6]) hielt dieselben Einschlüsse für sporenartige Gebilde, wogegen Babes[7]) ihnen wohl bei dem Teilungsprozesse und bei der Sporenbildung eine Rolle zuschrieb, sie aber nicht für Sporen im strengen Sinne des Wortes ansehen wollte.

Loeffler und Klebs[8]) fanden bei der Färbung mit Methylen-

---

1) F. Raum, Zur Morphologie und Biologie der Sproßpilze. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. X. 1891. p. 20.)

2) F. Schmitz, Untersuchungen über den Zellkern d. Thallophyten. (Sitzungsberichte der niederrheinischen Ges. f. Natur- und Heilkunde. 1879.)

3) E. Strasburger, Botan. Practicum. 1884. p. 351.

4) E. Zacharias, Beiträge zur Kenntnis d. Zellkerns u. d. Sexualzellen. (Bot. Zeitung. 1887. p. 301.)

5) P. Ernst, Ueber d. Bacillus Xerosis und seine Sporenbildung. (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. IV. 1888. p. 25.)

—, Ueber Kern und Sporenbildung in Bakterien. (Ebenda. Bd. V. 1889. p. 248.)

6) Neißer, Versuche über die Sporenbildung bei Xerosebacillen, Streptokokken und Choleraspirillen. (Ebenda. Bd. IV. 1888. p. 166.)

7) Babes, Ueber isoliert färbbare Anteile von Bakterien. (Ebenda. Bd. IV. 1888. p. 173.)

8) Klebs, Allgemeine Pathologie. Th. 1. 1887. p. 194.

blaulösung und Entfärbung mit Alkohol Körnchen in den Diphtheriebacillen, und Klebs sprach die Vermutung aus, daß die blau gebliebenen Körner von stark färbbarer Substanz eingehüllte Sporen sind.

Auch Steinhauser[1]) schreibt den sporogenen Körnern sowohl bei der Teilung als auch bei der Sporenbildung eine Rolle zu und meint, daß nicht in allen Fällen die „sporogenen Körner“ morphologisch einander gleichzustellen sind; er schlägt deshalb vor, diese Gebilde mit dem nichts präjudizierenden Namen „Granula“ zu bezeichnen. Wenn man Hefezellen in reinem Wasser untersucht, so sieht man kaum etwas von Körnchen; wenn man aber reine Salzsäure zufließen läßt, so weist jede einzelne Zelle eine deutliche Granulierung auf. Jodjodkalium und Schwefelsäure läßt die Körnchen sehr deutlich hervortreten, ebenso reine Essigsäure, Sodalösung oder 10-proz. Kochsalzlösung.

Die Körnchen sind in den einzelnen Zellen ungleich verteilt; bald finden sie sich dicht gedrängt um die Peripherie der innerhalb des Zellleibes liegenden Vacuolen bald ist ihre Zahl ziemlich beschränkt. In einzelnen Zellen liegen die Körnchen auch innerhalb der Vacuole oder hart an ihrer Grenze; in einer andern Reihe von Zellen scheint es, als ob die Körnchen aus dem Plasma austreten wollten, und bei noch anderen liegen einzelne Körnchen thatsächlich außerhalb des Plasmas. Dieses verschiedene Verhalten der Zellen läßt sich wohl mit ihrer verschiedenen Lebensthätigkeit, insbesondere mit den verschiedenen Stufen der Entwickelungsvorgänge in Zusammenhang bringen. Damit stimmt auch die verschiedene Affinität der Körnchen zu den Farbstoffen überein; bei der Tinktion der Zellen sieht man, daß sie sich bald sehr dunkel färben und sich vom umgebenden Plasma sehr scharf abheben, bald aber nur wenig Farbe annehmen.

Raum[2]) schreibt den Vacuolen im Innern der Hefezellen eine innige Beziehung zu den Körnchen zu; da nach ihm die Vacuolen nichts anderes sind, als specifisch veränderte protoplasmatische Körper, so lag es für ihn nahe, ein Uebergehen von Vacuolen und Granulationen ineinander anzunehmen.

Auch meine Beobachtungen nötigen mich, einen innigen Zusammenhang zwischen den Vacuolen und den Körnern anzunehmen, wenn ich auch in Bezug auf die Deutung derselben mit Raum nicht übereinstimme. Meine Ansicht gründet sich auf die Einwirkung von Farbstoffen auf die lebenden Hefezellen. Es zeigte sich dabei, daß die Körnchen das erste sich färbende Element in den Sproßpilzzellen bilden und sich dadurch in ihrem Verhalten leicht studieren lassen.

Aus den Untersuchungen von Cornil und Babes[3]) und von

1) Steinhauser, Zur Lehre von den sporogenen Körnern. (Verhandlungen der biolog. Sektion der Warschauer Naturf. Ges. 1889. No. 3 (russisch). — Biolog. Centralblatt. Bd. IX. 1889. No. 17.)

—, Les granules des microbes. (Association Franç. pour l'avancement des sciences. Congrès de Paris 1889.)

2) F. Raum, l. c.

3) Les bactéries. Edition. II. p. 72.

Birch-Hirschfeld[1]) ergiebt sich, daß die lebenden Zellen unter gewissen Umständen Farbstoffe anzunehmen vermögen. Daran mich anschließend, habe ich in vielfacher Weise Sproßpilze in gefärbten Nährlösungen zu kultivieren versucht. Es wurde als Nährmedium Bierwürze verwendet, welche mit den verschiedensten Farbstoffen versetzt wurde. Am geeignetsten erwies sich der Zusatz einer 1 % wässerigen Benzopurpurinlösung, da dieser Farbstoff zum Unterschied von den meisten anderen, in Gebrauch gezogenen Tinktionsmitteln keinen Niederschlag bildete; auch Methylgrün und Kongorot gaben gute Resultate. Selbstverständlich müssen die Farblösungen vor ihrer Verwendung sorgfältig sterilisiert sein, am besten ist es, gleich von Anfang an zur Auflösung des Farbstoffes sterilisiertes destilliertes Wasser zu verwenden und mit einer sterilisierten Pipette in die Bierwürze einige Tropfen der Farblösung einfließen zu lassen. Läßt man in der gefärbten Bierwürze die Saccharomyceszellen sich durch einen oder zwei Tage entwickeln, so findet man in den Zellen einzelne gefärbte Körnchen, teilweise in den Vacuolen, teilweise außerhalb derselben. Die Körnchen innerhalb der Vacuolen zeichnen sich durch eine ganz besonders lebhafte Eigenbewegung aus; es wird vollkommen deutlich, daß jedes von den innerhalb der Vacuole herumschwärmenden Körnchen einen Hof hat, der hell erscheint, während das Körnchen selbst gefärbt ist; die Körnchen drehen sich bei ihren Bewegungen um ihre eigene Achse, und bei manchen Stellungen erscheinen sie ungefärbt, wahrscheinlich dann, wenn gerade eine Stelle des Hofes dem Beschauer zugekehrt ist; alsbald aber tritt wieder bei einer Aenderung der Stellung die rote Farbe des Körnchens auf.

Ganz eigentümlich erscheinen die Lageveränderungen der Körnchen innerhalb des Plasmas. Während die innerhalb der Vacuole schwärmenden Körnchen sich außerordentlich rasch bewegen, ist die Bewegung innerhalb des Plasmas ziemlich langsam und kann nur bei einer entsprechend langen Betrachtung einer einzelnen Zelle deutlich gesehen werden. Man kann sogar manchesmal beobachten, daß die Körnchen aus der Vacuole heraus in das Plasma treten und sich weiter bewegen, ja, dann wieder aus dem Plasma heraustreten können, um sich an den äußeren Zellrand anzulegen.

Nach dem Verhältnis der Zahl der sich färbenden Körnchen zu den Vacuolen lassen sich nach meinen Untersuchungen drei Arten unter den Sprosspilzzellen unterscheiden. Die eine Art zeigt Vacuolen und zahlreiche Körnchen, die zweite Art zeigt bloß Körnchen und entbehrt der Vacuolen, und die dritte Art zeigt neben den Vacuolen nur sehr wenig Körnchen.

In der ersten Art ist die Größe der Vacuolen und die Größe der Körnchen sehr wechselnd. Die Zahl der Vacuolen variiert zwischen eins und drei. Die Größe der Körnchen in einer Zelle ist sehr ungleich. Zumeist liegen die größeren Körnchen an der Peripherie der Vacuolen.

---

1) Birch-Hirschfeld, Ueber die Züchtung von Typhusbacillen in gefärbten Nährlösungen. (Archiv f. Hygiene. Bd. VII. 1887.)

In den körnchenarmen Zellen kann man auch an den Vacuolen selbst langsame Bewegungserscheinungen vor sich gehen sehen. Die Vacuolen zeigen Einschnürungen und andere Formveränderungen und scheinen sich zu vergrößern und zu verkleinern.

In der zweiten Art der Hefezellen, in den körnchenreichen Zellen ohne Vacuolen, wechselt das Bild der Granula noch mehr. Oftmals liegen im Innern der Zelle Körnchen so dicht gedrängt nebeneinander oder konfluieren mit einander vollständig, so daß sie einen Kern zu bilden scheinen, der sich in seinem tinktoriellen Verhalten von den übrigen Körnchen nicht unterscheidet.

Die dritte Art der Zellen zeichnet sich dadurch aus, daß die Vacuole außerordentlich groß ist und den ganzen Raum der Zelle einnimmt, so daß das Plasma auf einen ganz schmalen Saum reduziert erscheint, in dem ich mittelst der Farbstoffe von Körnchen nur wenige oder gar keine sichtbar machen konnte.

Ein Beweis für die Zusammengehörigkeit von Vacuolen und Körnchen scheint mir darin zu liegen, daß an jenen Zellen, an welchen mehrere Vacuolen sichtbar waren, die Anordnung der Körnchen eine gewisse Regelmäßigkeit zeigte.

Abgesehen davon, daß jede der Vacuolen von einem Kranz von Körnchen umgeben ist, erscheinen die Körnchen in dem die Vacuolen trennenden Raume stärker angehäuft.

Wenn eine größere Vacuole Einschnürungen zeigt, so liegen an der Einschnürungsstelle regelmäßig ziemlich große, sich intensiv färbende Körnchen.

Wenn die Sprossung beginnt und in der Tochterzelle eine Vacuole auftritt, so sieht man, daß der Plasmateil, welcher die Mutterzelle mit der Tochterzelle verbindet, Körnchen enthält; vielleicht treten auf dieser Straße die Körnchen aus der Mutterzelle in die Tochterzelle.

Einige Beobachtungen, welche ich an meinen Präparaten machen konnte, lassen es mir nicht unwahrscheinlich sein, daß der Austritt von Körnchen aus der Mutterzelle ein Vorstadium der Sprossung sei; die Körnchen legen sich hart an den Rand der Mutterzelle an und scheinen nachträglich weiteres Plasma zu bekommen.

Ganz ähnliche Resultate wie die Untersuchung der in der gefärbten Bierwürze zur Entwickelung gelangten Sproßpilzzellen ergab die isolierte Färbung mit Methylgrün oder Benzopurpurin. Zu diesem Zwecke muß eine koncentrierte wässerige Lösung des Farbstoffes verwendet und nur auf wenige Sekunden mit den lebenden Saccharomyceten in Verbindung gebracht werden; eine sehr geringe Menge der gefärbten Zellen wird darauf in reines Wasser gebracht und in diesem untersucht. Das Protoplasma der Zellen zeigt noch keine Färbung, nur die Körnchen am Rande der Vacuole oder innerhalb der Vacuole, sowie die Körnchen, welche aus der Zelle auszutreten im Begriffe sind, erscheinen tingiert. Läßt man aber die Hefe längere Zeit mit der Farbe in Verbindung, so tingiert sich auch das Plasma der Zelle; dabei sieht man aber, daß dann auch andere Körnchen gefärbt erscheinen, wobei freilich die Körnchen an der Wand der Vacuole durch einen viel dunkleren Farbenton auffallen.

Eine andere Färbungsmethode, welche eine isolierte Färbung der Körnchen erlaubt, ist das Kongorot. Auch dieses darf nur kurze Zeit mit den Hefezellen in Verbindung sein und muß entsprechend koncentriert zur Verwendung kommen. Die Eigenschaft des Kongorotes, sich beim Vorhandensein von Salzsäure blau zu färben, ermöglicht es, eine weitere Reaktion vorzunehmen, die aber nur bei sehr großer Vorsicht gelingt, da sehr leicht ein Niederschlag von blauem Farbstoff entsteht, welcher das ganze Bild stört. Die Art und Weise, wie ich noch verhältnismäßig am häufigsten diese Reaktion erhielt, ist folgende: Man bringt die lebenden Zellen auf 24 Stunden in eine wässerige Kongorotlösung von mäßiger Koncentration, hebt mit der Platinöse ein Tröpfchen des gefärbten Hefebreies heraus, verteilt es in mit Salzsäure angesäuertem Wasser, bringt ein Pröbchen dieser Aufschwemmung in reines Wasser und untersucht. Neben Farbstoffniederschlag findet man auch Zellen, in welchen die am Rande der Vacuole und die innerhalb der Vacuole liegenden Körnchen blau erscheinen.

Aus diesen Färbungen geht hervor, daß den am Rande der Vacuole und innerhalb derselben liegenden Körnchen nicht dieselbe chemische Natur zuzuschreiben ist, wie den im übrigen Plasma sichtbar werdenden Körnchen. Diese beiden Arten von Körnchen verhalten sich den Reagentien gegenüber nicht gleich; so verschwinden beim Zusatz von reiner koncentrierter Salzsäure die Körnchen am Rande der Vacuole und lassen sich mit Methylgrün nicht mehr färben, während die übrigen Körnchen im Plasma infolge der Salzsäurewirkung deutlich hervortreten. Meine diesbezüglichen Untersuchungen lassen mich der von Krasser[1]) gemachten Angabe beitreten, daß die im Plasma verteilten Körnchen kein Nucleïn enthalten.

Die Nucleïnkörper zeichnen sich bekanntlich dadurch aus, daß sie den Farbstoff zuerst in sich aufspeichern, und daß derselbe sich aus ihnen wieder schwieriger entfernen läßt als aus dem übrigen Zellinhalt. Bei längerer Einwirkung der Farbstoffe, welche bei kurzer Einwirkung nur das Nucleïn färben, färbt sich aber auch das ganze Protoplasma. Daraus ergiebt sich, daß die Lösung der Frage, ob wir imstande sind, den Körnchen in der Hefe die Nucleïnnatur zuzuschreiben, nur durch die im vorhergehenden beschriebene isolierte Färbung der Körnchen zu erzielen ist.

Eine weitere Identitätsreaktion ist die Behandlung mit künstlichem Magensaft. Nucleïn gehört nach den Angaben von Zacharias[2]) zu den nicht peptonisierbaren Substanzen, da es bei der Verdauung mit pepsinhaltigen Flüssigkeiten zurückbleibt. Eine mehrstündige Einwirkung des Magensaftes bei der Temperatur des menschlichen Körpers läßt die Zellen wie gequollen erscheinen; wenn man aber die so peptonisierte Hefe mit Methylgrün behandelt, so erhält man wieder die Grünfärbung der an der Wand

---

1) F. Krasser, Oesterr. bot. Zeitschrift. 1885. p. 375.

2) Zacharias, Ueber die chemische Beschaffenheit des Zellkerns. (Botan. Zeitung. 1882.)

der Vacuole liegenden Körner; das übrige Plasma erscheint diffus gefärbt und läßt keine Körnchen mehr hervortreten.

Ich möchte nun glauben, daß wir in den Körnchen, welche rings um die Vacuole und teilweise in derselben sind, bestimmt lokalisierte Kernsubstanz zu sehen haben, und daß es sich in den Hefezellen um phylogenetisch tiefstehende Organismen handelt.

Schon Auerbach[1]) hat in Bezug auf die allgemeine Entstehung des Zellkernes die Ansicht aufgestellt, „daß der Zellkern bei seiner Neubildung ursprünglich nichts anderes ist, als eine Art Vacuole, genauer gesagt, als ein Tropfen eines vom Protoplasma verschiedenen klaren Fluidums, welches ohne besondere Umhüllung eine entsprechende Höhle im Protoplasma ausfüllt.“

Auch Hofmeister[2]) fasste die Bildung des Zellkernes als eine Trennung auf, welche die eiweißreichsten Teile des Protoplasmas von dessen übriger Substanz erfahren, und meinte, daß diese Teile im Innern des Protoplasmas zu einem Tropfen zusammentreten.

In ähnlicher Weise könnte man sich vorstellen, daß die Vacuolen im Innern der Hefezellen diesen Tropfen entsprechen, und daß die an ihrem Rande sichtbaren Nucleïnkörnchen die Bildung eines eigentlichen Kernes anbahnen dürften. — Die Vacuolen und die ihnen anhängenden, sowie die in ihnen befindlichen Körnchen würden dann als ein Vorläuferstadium der Kernentwickelung anzusehen sein, und wir müßten die Zellen der Saccharomycesarten für Individuen halten, welche auf einem sehr frühen Zustande der phylogenetischen Entwickelung der Zelle stehen geblieben sind.

Auch Wiesner[3]) hält die Hefezellen für hochentwickelte Repräsentanten jener Form, welche schon den frühesten Organismen eigen war. Nun schreibt Wiesner aber den Hefezellen ein Archiplasma zu, also einen Zellleib, welcher die Eigenschaften des Kerns und des Protoplasmas in sich vereinigt, weil der spezifische Kernstoff im allgemeinen Protoplasma der Hefezellen verteilt ist.

Ich hingegen glaube, daß die Hefezellen nicht auf dieser ersten, sondern bereits auf einer höheren Stufe der Zellentwickelung stehen, bei der sich im Protoplasma bereits eine Vacuole gebildet hat und Kernsubstanzen auftreten.

Diese sind allerdings vor der Hand voneinander noch räumlich getrennt, zeigen aber schon das Bestreben, sich miteinander zu verbinden und zu einem dem Zellkerne der höheren Zellen entsprechenden Gebilde zu werden.

16. August 1895.

---

1) Auerbach, Organologische Studien. Hett 2. p. 238.

2) Hofmeister, Die Lehre von der Pflanzenzelle. Leipzig 1867. p. 80.

3) Wiesner, Die Elementarstruktur und das Wachstum der lebenden Substanz. Wien 1892. p. 266.

Cephaleuros Coffeae, eine neue parasitische Chroolepidee.

Von

Dr. F. A. F. C. Went.

Mit 1 Tafel.

Auf Coffea liberica tritt eine Krankheit auf, welche hier in Tegal ziemlich allgemein verbreitet ist und also wahrscheinlich auch wohl an anderen Orten Javas gefunden worden ist. Die Krankheitserscheinung ist sehr leicht zu beobachten an den unreifen Beeren, da diese schwarz werden und frühzeitig vertrocknen, so daß auch die Samen nicht zur Reife kommen. Bei näherer Betrachtung ergiebt sich, daß man an den Beeren allerlei Krankheitsstadien beobachten kann, und daß man anfangs nichts Anderes sieht als einige orangebraune kreisrunde Flecken, welche schon dem unbewaffneten Auge als behaart erscheinen. Die Anzahl dieser Flecken vermehrt sich dann allmählich, die Beere wird braun, runzelig und endlich schwarz, wobei sie bald fast vollständig vertrocknet.

Bei der weiteren Untersuchung findet man, daß bei den kranken Bäumen ähnliche Flecken auch auf den Blättern vorkommen. Die glatten, glänzenden Blätter des Liberiakaffeebaumes werden gewöhnlich von vielen Epiphyten, besonders Lichenen, bewohnt [1]); durch ihre braunrote Farbe sind aber die hier gemeinten Flecken leicht zu finden. Auch eine Verwechselung mit den Flecken der Hemileia vastatrix ist ausgeschlossen, da diese viel mehr hellorange sind ohne scharf umschriebenen Umriß und dabei nur an der Unterseite der Blätter gefunden werden, während bei unserer Krankheit die Flecken sowohl an der Ober- als an der Unterseite des Blattes sichtbar sind.

Bei der mikroskopischen Untersuchung stellt sich bald heraus, daß diese Flecken auf Beeren und Blättern bewohnt werden von einer Alge, wovon die grünen Chromatophoren teilweise leicht sichtbar sind, teilweise aber verdeckt werden durch orangegelbe Farbstoffkörper; dieser letztgenannte Farbstoff bedingt eben das Aussehen der Flecken. Die Algenfäden werden teilweise im Innern der Flecken gefunden, aber hauptsächlich bilden sie eine Thallusschicht, welche mehrere Zellen dick ist, auf der Oberfläche der Beeren und der oberen Blattepidermis. Von dieser Schicht erheben sich Haare (welche auch an der unteren Blattepidermis aus dem Blattgewebe hervortreten), welche von einem Sporangienköpfchen gekrönt sind.

Der gelbe Farbstoff der Alge löst sich in absolutem Alkohol, aber

1) Es mag hier beiläufig bemerkt werden, daß die Angabe Haberlandt's (Eine botanische Tropenreise. p. 106), wonach die glatte Oberseite vieler Tropenblätter ein Schutz gegen die Ansiedelung von Epiphyten und Parasiten bildet, in ihrer Allgemeinheit jedenfalls unrichtig ist. Die am stärksten von Epiphyten und Parasiten befallenen Blätter sind hier gerade diejenigen mit glatter Oberseite.

nicht in verdünntem Alkohol. Nach der Lösung bleibt kein Rückstand übrig; in kaltem oder kochendem Wasser erfährt er keine Veränderung, ebensowenig in starker Lauge; in Schwefelsäure verändert sich die Farbe in Blauschwarz, in Osmiumsäure in Braun, Eisenchlorid färbt die Körper blauschwarz, Jod — in jeder Form — dunkelblau; diese letztgenannte blaue Farbe verschwindet beim Erwärmen, kehrt aber bei nachheriger Abkühlung wieder zurück. Der Farbstoff ist also Hämatochrom[1]), und die Alge gehört zu den Chrolepideen Karsten's, und zwar zur Gattung Cephaleuros. Für alles Nähere über diese Gattung verweise ich ein für allemal auf die citierte Abhandlung Karsten's, auch für Litteraturnachweise, besonders da mir die weitere Litteratur, z. B. die Arbeiten Cunningham's und Marshall Ward's, nicht zugänglich waren. Da aber Karsten alles früher Mitgeteilte über die Gattung Cephaleuros zusammengefaßt hat und alle bekannten Arten näher beschrieben, so läßt sich doch wohl sagen, daß wir es hier mit einer neuen Art zu thun haben[2]). Karsten giebt als parasitische Arten an C. parasiticus und C. minimus; letztgenannte Art hat ganz anders gebildete Hakensporangien, während der Thallus die abgestorbenen Blattteile vollständig ausfüllt. C. parasiticus hat mehr Aehnlichkeit mit unserer Art, indessen ergiebt sich aus den Größenangaben Karsten's, daß sie etwas kleiner ist. Außerdem bewirkt diese Art bei den angegebenen Wirtspflanzen (Calathea metallica, Pandanus) keine anatomischen Veränderungen, während diese hier bei Coffea liberica, wie wir bald sehen werden, sehr auffallend sind; deshalb nenne ich unsere Art Cephaleuros Coffeae. Ob dieselbe außer auf Liberiakaffee auch vielleicht auf Javakaffee (C. arabica) auftritt, ist mir unbekannt; bis jetzt habe ich nichts Derartiges gefunden. Nur sah ich aus einer kurzen Mitteilung von Janse[3]), daß derselbe von Sumatra (Padang) Blätter zugeschickt bekommen hat von Coffea arabica, die von einer Alge befallen waren, welche aber nicht näher beschrieben wird.

Cephaleuros Coffeae befällt also, wie gesagt, Blätter und Beeren vom Liberiakaffee. Die Thallusschicht auf der Außenseite der Beeren und der oberen Blattepidermis besteht aus einer Anzahl in allen Richtungen durcheinander verflochtener Zellfäden. Diese Fäden heben die Cuticula vom Blatte ab, bleiben davon teilweise bedeckt, drängen sich aber auch zwischen und unter die Epidermiszellen hindurch, deren Umrisse dann oft nur noch undeutlich erkennbar sind (Fig. 9 und teilweise Fig. 10 bei *th*). Von dieser Thallusschicht aus verlaufen Zellfäden in das Innere der Beere und des Blattes. Bei der Beere bleiben diese ziemlich kurz (bei der fünften und sechsten

1) Nur die Abhandlung von G. Karsten, Untersuchungen über die Familie der Chroolepideen (Ann. d. jardin bot. de Buitenzorg. X. p. 1—66) war mir zugänglich; dasjenige, was Cohn, Rostafinski, Hildebrand und Frank über Hämatochrom geschrieben, habe ich nicht gesehen.

2) Wenn nicht dieselbe Cephaleurosart sich auf verschiedenen Wirtspflanzen verschieden verhält; um das zu prüfen, sind aber ausführliche Kulturversuche anzustellen, welche Karsten nicht gemacht hat.

3) J. M. Janse, Teysmannia. I. 1890. p. 313.

Zelle hört ihr Wachstum meist schon auf), beim Blatte durchwachsen sie schnell das Palissadenparenchym und durchziehen dann in allen Richtungen das Schwammparenchym; wenn die untere Epidermis erreicht wird, können die Fäden aus den Spaltöffnungen hervortreten und hier Haarbüschel mit Sporangien bilden, ähnlich denen auf der oberen Epidermis (Fig. 9). Die Algenfäden findet man nie intracellular, sie wachsen und verzweigen sich nur in den Intercellularräumen.

Die Haare, welche man auf der Außenseite der Beeren und der oberen und unteren Blattepidermis findet, stehen gewöhnlich zu drei bis vier zusammen (z. B. Fig. 1, wo zwei der Haare abgeschnitten sind etwas oberhalb der Basis, vergl. auch Fig. 9). Sie sind dickwandig und mehrzellig, erreichen eine Länge von 150—200 μ und bilden an ihrer Spitze eine Anzahl gekrümmter Halszellen, wovon jede ein Sporangium trägt (Fig. 1, 2). Bisweilen wächst die Stielzelle hierbei noch weiter, wie in Fig. 3, wo also die Hakensporangien in einem Wirtel angeordnet sind. In einem Falle sah ich ein Haar, das nachher an seiner Spitze noch einmal Sporangien gebildet hatte; in dieser Weise waren also zwei Wirtel von Halszellen entstanden.

Die reifen Sporangien enthalten eine Anzahl Zoosporen (Fig. 4), welche nicht ganz der Wand anliegen. Wenn die Schwärmer frei geworden sind, sieht man, daß sie zwei lange Wimpern besitzen, welche an einer farblosen Stelle des Protoplasts befestigt sind; weiter findet man an der gegenüberliegenden Seite Chlorophyllkörper und Hämatochrom, letzteres in sehr wechselnder Menge (Fig. 5*a*, 6). Die ersten Keimungsstadien dieser Zoosporen konnte ich beobachten im hängenden Tropfen; dieselben sind in Fig. 5*b* u. *c* gezeichnet; wie man sieht, war ein farbloser Keimschlauch entstanden. Außer diesen Hakensporangien findet man im schichtenförmigen Thallus auch große Kugelsporangien eingesenkt.

Wenn man jetzt noch einmal die Fig. 1 betrachtet, wird man sehen, daß das linke Haar von Pilzfäden umsponnen wird; viele dieser Haare sind bald ganz verpilzt, ebenso der schichtenförmige Thallus, so daß eine Art Flechtenbildung auftritt, welche ich aber nicht weiter untersuchte. Nun scheinen aber eben diese Pilze der Beere erheblichen Schaden anzubringen, da sie in das durch die Alge zum Absterben gebrachte Gewebe eindringen und hierdurch das Schwarzwerden der Beere bedingen [1]). Beim Blatte ist der Schaden nicht sehr groß, weil die Algenfäden sich nicht nach allen Seiten verbreiten können, da das Blatt sich durch eine Neubildung schützt.

Wenn man einen Querschnitt durch eine derartige kranke Blattstelle macht, wie in Fig. 7, dann sieht man in der Mitte bei *c* das eigentliche von der Alge befallene Blattgewebe, das in Fig. 9 bei stärkerer Vergrößerung dargestellt ist; die Algenfäden wachsen hier in den Intercellularen, speziell des Schwammparenchyms, die Blatt-

---

1) Ich will nicht behaupten, dafs diese Pilze nur nach einem Anfall der Alge die Beere befallen können; vielleicht treten sie auch selbständig auf: darüber habe ich keine Untersuchungen angestellt. Die Erscheinung des Schwarzwerdens der Beeren war für mich Nebensache und nur eine Veranlassung zur Untersuchung von Cephaleuros Coffeae.

zellen sind abgestorben und sehen braun und vertrocknet aus; infolge ihres Austrocknens scheinen sie an einigen Stellen zu zerreißen. Bei *a* ist das normale Blattgewebe sichtbar, aber zwischen *a* und *c* befindet sich ein Teil des Blattes, hier mit *b* angedeutet, worin anatomische Veränderungen stattgefunden haben, wobei das Blatt einigermaßen dicker geworden ist. In Fig. 10 ist ein derartig veränderter Blattteil stärker vergrößert dargestellt; zur Vergleichung dient die Fig. 8, ein Querschnitt eines normalen Blattes.

Aus Fig. 8 sehen wir, daß unter der Epidermis *e* zwei Reihen von Palissadenparenchymzellen liegen, und daß sich daran anschließend zwei Reihen mehr oder weniger abgerundeter Zellen den Uebergang bilden zum eigentlichen weitmaschigen Schwammparenchym. Vergleicht man jetzt hiermit Fig. 10, dann sieht man, daß das Eigentümliche des anatomisch veränderten Blattes hauptsächlich eine Folge ist von Vergrößerung der meisten oder wenigstens vieler Blattzellen und von Verdickung der Zellhäute, welche beide Ursachen ein Verschwinden der Intercellularräume hervorrufen. Daneben treten Zellteilungen auf; das geht schon daraus hervor, daß hier nur eine Schicht Palissadenparenchymzellen vorkommt, während die zweite ganz in das hypertrophierte Gewebe (*h*) aufgegangen ist. Aber auch in zwei dieser Palissadenparenchymzellen sehen wir in Fig. 10 eine Querwand entstanden. Hier und dort zwischen den vergrößerten Zellen trifft man einige tote Elemente an, scheinbar schon von der Alge getötet, bevor das Blatt sich selbst geschützt hatte. Von den Palissadenparenchymzellen sind die meisten gestorben; diese grenzen aber auch an der Thallusschicht der Alge — die obere Thallusschicht erreicht beinahe das normale Blattgewebe — während sich im übrigen hypertrophierten Gewebe keine Algenfäden mehr befinden. Das Liberiakaffeeblatt schützt sich also gegen Angriffe von Cephaleuros Coffeae, indem es um den von der Alge befallenen Teil einen Ring bildet, der aus vollkommen aneinander schließenden dickwandigen Zellen besteht, wo die Algenfäden nicht hindurch können. Daß wirklich dieser Ring überall geschlossen ist, ergiebt sich am besten, wenn man eine Reihe von Längsschnitten parallel der Blattfläche durch ein krankes Blatt macht; nirgends wird man eine Lücke entdecken. Einen solchen Längsschnitt durch die Mitte des Schwammparenchyms giebt Fig. 11. Unten links befindet sich das normale Gewebe, oben rechts das kranke Gewebe mit Algenfäden, dazwischen der hypertrophierte Blattring.

Bisweilen findet man auch etwas entfernt von diesem Blattringe, sei es im normalen Gewebe, sei es an der von der Alge befallenen Stelle, einige vergrößerte Zellen mit verdickter Zellhaut. Dort läßt sich untersuchen, wie die Zellhautverdickung entsteht; man sieht dann ein sehr eigentümliches Bild. Zwei bisher normale Zellen wachsen in einen Intercellularraum hinein; dort, wo sie sich einander nähern, verdicken sie sich durch Bildung von Warzen an der Außenseite der Zellhaut; es scheint fast, als ob diese Warzen später ineinander greifen, wobei eine weitere Verdickung der Zellhaut alle übrig gebliebenen Lücken verschließt. Da die Innenseite der Zellhaut vollkommen glatt bleibt, so können diese Warzen wohl schwerlich

durch Apposition entstanden sein, sondern müssen entweder durch Intussusception oder durch Inkrustierung gebildet worden sein; näher habe ich aber diesen Punkt nicht untersucht.

Cephaleuros Coffeae ist also in jeder Beziehung eine sehr interessante Form der Chroölepideen. Erstens ist der Parasitismus bei keiner Alge aus dieser Gruppe so ausgesprochen wie hier (nirgends treten infolge des Angriffes der Alge anatomische Veränderungen der Wirtspflanze auf), so daß also C. Coffeae als bis jetzt bekanntes letztes Endglied eines Formenkreises auftritt, den Karsten mit folgenden Worten beschreibt[1]:

„Die weitere Entwickelung des Formenkreises geht hier auseinander. Die Phycopeltisarten behalten vollkommen die Lebensweise bei, welche Trentepohlia und Chroolepus zeigten. Sie leben selbständig auf dem Blatte, dem sie nichts als den Standort mit seinen Beleuchtungsverhältnissen etc. verdanken. Die Cephaleurosgruppe dagegen tritt vielfach in ein engeres Verhältnis zum Substrate. Die Befestigung durch Rhizoiden und die Ausbildung einer quasi gemeinsamen Cuticula ist der erste Schritt; ob die Rhizoiden lediglich der Festheftung dienen, ist schwer zu entscheiden. Die häufig eintretende Schwärzung des unter dem Thallus liegenden Blattgewebes scheint fast das Gegenteil anzudeuten, um so mehr, da diese Wahrnehmung bei den Phycopeltisarten nie zu machen ist. Unbestreitbar aber ist der Parasitismus bei Cephaleuros parasiticus und minimus, welche tief ins Blatt eindringende Senker treiben und ihren Wirt empfindlich schädigen. Daß bei diesen zwei Formen die dichotomische Verzweigung und regelrechte Flächenausdehnung ganz verloren gehen, ist als direkte Folge des Parasitismus aufzufassen. Sucht man noch eine Erklärung dafür, daß diese durch ihren Chlorophyllgehalt zu selbständigem Leben befähigten Algen zu parasitischer Lebensweise gelangt sind, so liegt es nahe, ein bisher noch fehlendes Zwischenglied anzunehmen, welches lediglich Raumparasitismus triebe, ohne die Wirtspflanze anders als höchstens mechanisch zu schädigen. Der Nutzen eines solchen Raumparasitismus würde in der größeren Sicherheit gegen die Angriffe der Pilze zu finden sein, denen die freilebenden Arten in so hohem Maße preisgegeben sind (cf. Cunningham und Marshall Ward l. c.). In der That bleiben auch C. parasiticus wie C. minimus von Pilzen meist verschont, während es sonst auf algenreichen Blättern fast nie an den betreffenden Flechtenbildungen mangelt."

Die paar letzten Sätze werden nach dem, was wir bei Cephaleuros Coffeae gesehen, wo die Alge sehr stark von Pilzen befallen wird (selbst die Fäden in den Intercellularräumen des Blattes sind oft verpilzt) ungeachtet ihres Parasitismus wohl einer anderen Erklärung weichen müssen. Aber übrigens tritt also C. Coffeae als Endglied dieser Gruppe von Chroolepideen auf.

Besonders interessant ist hier die Art und Weise, wie das Blatt des Liberiakaffeebaumes sich gegen einen Anfall der Alge schützt,

1) Karsten, l. c. p. 48.

indem es um die befallene Stelle herum einen mehrere Zellen dicken Ring von dickwandigen, fest aneinander schließenden Zellen bildet, wo die Algenfäden nicht hindurch können. Daß ein Angriff der Alge sonst sehr schädlich werden könnte, lehren uns die Beeren, welche sich nicht in derselben Weise verteidigen können und infolgedessen ganz vertrocknen und schwarz werden und dabei den Angriffen von allerlei Pilzen preisgegeben werden. Nun scheint es mir, daß die Entstehung mancher Hypertrophieen durch die Lebensgeschichte von Cephaleuros Coffeae dem Verständnis näher gebracht wird. Ich bemerke hierbei ausdrücklich, daß ich nur von Hypertrophieen rede, welche von pflanzlichen Parasiten verursacht werden. Ich schließe die tierischen Gallen hier aus, da ihre Besprechung weit über den Rahmen dieser kleinen Abhandlung hinausgehen würde und übrigens auch schon von Beyerinck ihre Entstehung ausführlich besprochen wurde [1]).

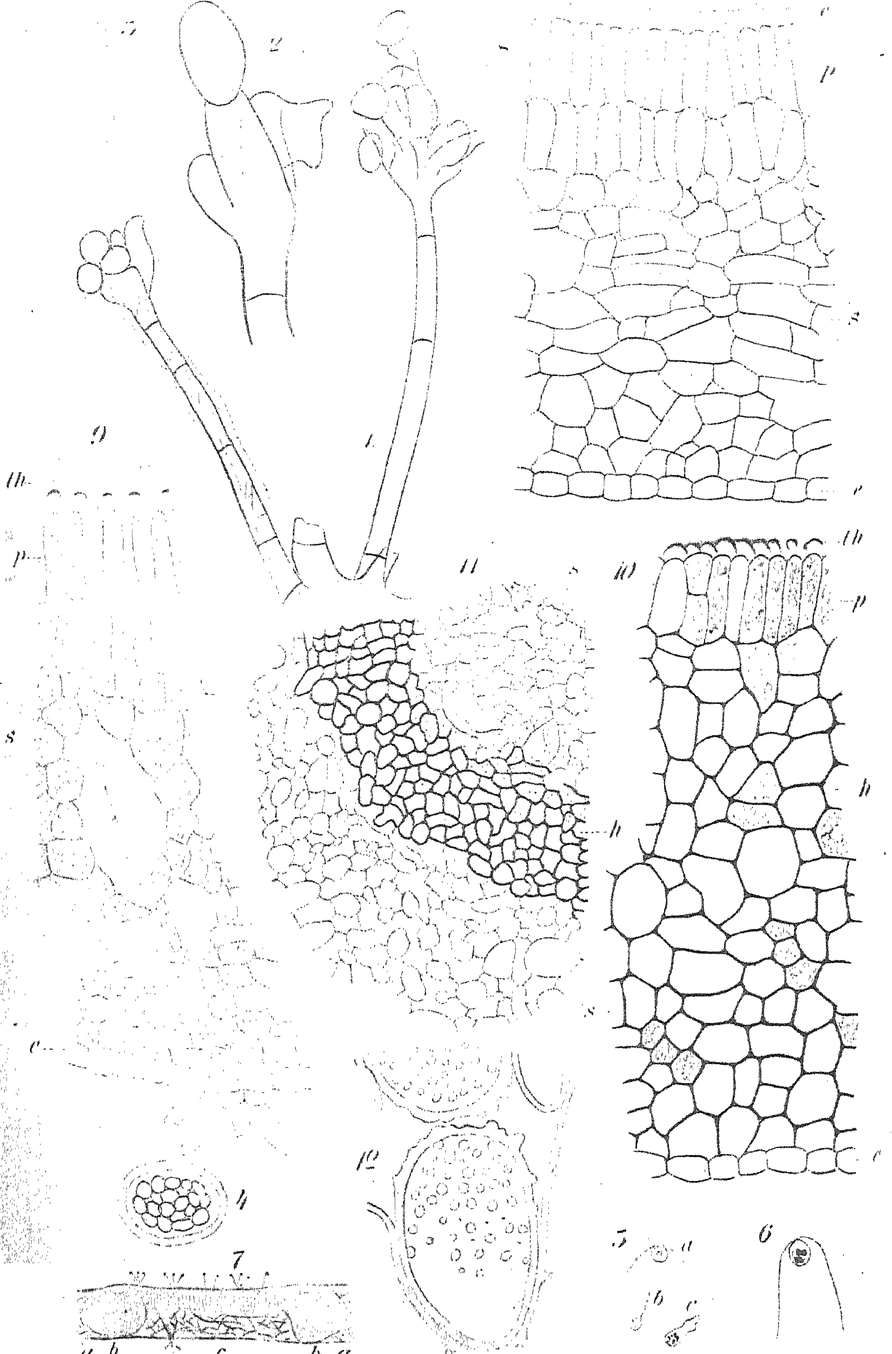
Die anatomischen Veränderungen, welche Cephaleuros Coffeae im Kaffeeblatte hervorruft, sind ähnlich denjenigen, welche man bei anderen Hypertrophieen antrifft, nämlich Zellvergrößerung (und Teilung) und dadurch Verschwinden der Intercellularen; u. a. giebt Wakker, der eine ganze Reihe von Hypertrophieen, durch parasitische Pilze verursacht, untersucht hat, als Schlußfolgerung unter den neuen Eigenschaften infolge des Anfalles des Parasiten entstanden [2]): „Die Vergrößerung der Zellen muß hier an erster Stelle erwähnt werden, weil sie bei allen echten Hypertrophieen auftritt. Sie bedingt größtenteils die Anschwellung sowie das Fehlen der Intercellularräume“, und an anderer Stelle [3]): „Die Intercellularräume sind z. B. in der Rinde von Vaccinium und Crataegus sehr stark entwickelt. Sie bleiben dagegen sehr klein in den Anschwellungen, welche Exobasidium und Roestelia bei diesen Pflanzen verursachen. Sehr deutlich ist Aehnliches zu sehen in Blättern; hier finden wir in den erkrankten Stellen anstatt des Schwammparenchyms immer fast genau aneinander schließende, beträchtlich vergrößerte Zellen.“ Daneben treten in den meisten Fällen weitere Komplikationen bei diesen Hypertrophieen auf, aber das verhindert nicht, daß wir uns alle Hypertrophieen auf phylogenetischem Wege entstanden denken können aus solchen, welche in ihrem anatomischen Bau an die von Cephaleuros Coffeae befallenen Blätter erinnern. Nun ist in letztgenanntem Falle der Nutzen dieser anatomischen Veränderung klar, weil eben nicht der von der Alge direkt befallene Teil des Blattes hypertrophiert; das Blatt schützt seinen gesunden Teil gegen weitere Anfälle des Parasiten, indem es seine Intercellularräume abschließt und dadurch ein weiteres Vordringen der Algenfäden verhindert. Wir können uns also diese ana-

1) M. W. Beyerinck, Beobachtungen über die ersten Entwickelungsstadien der Cyprepidengallen (Kon. Akad. v. Wetensch. Amsterdam 1882) und Das Cecidium von Nematus Capreae auf Salix amygdalina. (Bot. Zeitung. 1888. p. 1.)

2) J. H. Wakker, Untersuchungen über den Einfluß parasitischer Pilze auf ihre Nährpflanzen. Versuch einer pathologischen Anatomie der Pflanzen. (Jahrb. f. wiss. Botanik. XXIV. 1892. p. 542.)

3) Wakker, l. c. p. 541.





3
2
1
9
th
p
s
c
11
10
th
p
h
h
s
c
e
p
s
e
4
7
a b c b a
12
5 a
b
c
6

tomische Veränderung entstanden denken durch natürliche Zuchtwahl, wobei zu bemerken ist, daß wahrscheinlich das Kaffeeblatt diese anatomische Veränderung ausbildete, während die Alge mehr und mehr parasitisch wurde, daß jedenfalls eine Wechselwirkung zwischen beiden bestanden hat, da das Liberiakaffeeblatt nur in diesem ganz bestimmten Falle diese Hypertrophie bildet: wenn es z. B. von Hemileia vastatrix befallen ist, findet man keine Spur von irgend einer anatomischen Veränderung. Jetzt, wo einmal die anatomische Veränderung bei Cephaleuros Coffeaeflecken vorhanden ist, kann dieselbe sich weiter ausbreiten (und wir haben ja oben gesehen, daß Anfänge von dieser Ausbreitung schon vorhanden sind), und der Parasit wird sich die Hypertrophie wieder zu Nutzen machen können.

Nach dem hier Mitgeteilten wird man wohl bei manchen Hypertrophieen (wenigstens bei intercellular lebenden Parasiten) zur Erklärung dieser Gebilde neben Ernährungsreizen auch die natürliche Zuchtwahl einführen dürfen.

Kagok-Tegal, Mai 1895.

Erklärung der Tafel.

Fig. 1. Vergr. 340. Zwei Haare mit Hakensporangien, das linke Haar von Pilzfäden umsponnen. An der Basis noch zwei andere Haare, wovon der obere Teil abgeschnitten ist.

Fig. 2. Vergr. 770. Spitze eines Haares mit Halszellen und Hakensporangien.

Fig. 3. Vergr. 80. Haar, welches nach der Bildung von einem Wirtel von Hakensporangien an seiner Spitze weiter gewachsen ist.

Fig. 4. Vergr. 770. Hakensporangium mit Schwärmsporen.

Fig. 5. Vergr. 340. Zoosporen im hängenden Tropfen. *a* frei beweglich, *b* und *c* 24 Stunden nach der Keimung; ein kleiner farbloser Keimschlauch ist gebildet.

Fig. 6. Vergr. 770 Schwärmspore.

Fig. 7. Vergr. 20; schematisch. Querschnitt durch eine kranke Stelle eines Liberiakaffeeblattes. *a* Normales Gewebe, *b* hypertrophiertes Gewebe, *c* Gewebe mit den Algenfäden.

Fig. 8. Vergr. 160. Querschnitt durch ein normales Blatt von Coffea liberica.

Fig. 9. Vergr. 160. Querschnitt durch ein Blatt mit parasitischen Algenfäden auf der oberen Epidermis bei *th*, ein Schwammparenchym (*s*), und aus der unteren Epidermis *e* hervortretend.

Fig. 10. Vergr. 160. Querschnitt durch das hypertrophierte Gewebe eines Blattes an der Grenze des von der Alge befallenen Teile *s*. *th Algen* thallus auf der Epidermis. *p* Palissadenparenchym. *h* Hypertrophiertes Gewebe. Einige Zellen, besonders Palissadenzellen, gestorben.

Fig. 11. Vergr. 80. Längsschnitt (parallel der Blattfläche) durch das Schwammparenchym eines kranken Blattes. Rechts oben Stelle mit Algenfäden und toten Zellen; links unten lebendes Blattgewebe; dazwischen bei *h* der Ring von hypertrophiertem Gewebe.

Fig. 12. Vergr. 770. Zwei Zellen im Schwammparenchym in der Nähe des hypertrophierten Gewebes; diese haben sich vergrößert und an ihren frei liegenden Teilen Zellhautverdickungen in der Form von Warzen gebildet (teilweise von oben gesehen gezeichnet, teilweise im optischen Querschnitt).

Original-Referate aus bakteriologischen und gärungsphysiologischen Instituten, Laboratorien etc.

Sind die Hefen Frohberg und Saaz der Berliner Brauerei-Versuchsstation Hefetypen im physiologischen Sinne?

[Mitteilungen aus der vom kgl. bayer. Staate subv. Versuchsstation für Bierbrauerei zu Nürnberg.]

Von

Dr. E. Prior.

Mit 1 Figur.

(Fortsetzung.)

Die zum Eintritte der Luft in den Wasserkolben bestimmte zweite Röhre trägt ein 20 cm langes, steriles Luftfilter. Ueber das am oberen Ende des Metallfilters befindliche Rohr wird ein Stückchen Gummischlauch mit Schraubenquetschhahn zur Regulierung des Luftzutrittes gezogen.

In die zweite Bohrung des Gärkolbens wird ein in spitzem Winkel gebogenes, bis unter den Stopfen reichendes, schräg abgeschnittenes weites Glasrohr eingesetzt, welches vermittelst Saugschlauch mit einer leeren Saugflasche, die als Vorlage dient, verbunden ist. Die schräge Ansatzröhre der letzteren verbindet man mit einer gut wirkenden Wasserluftpumpe.

Ist der Apparat, wie angegeben, zusammengesetzt und mit Würze und Hefe beschickt, dann senkt man den Gärkolben in ein auf 30—33° C erwärmtes Wasserbad ein, setzt die Saugpumpe in Gang und reguliert durch den oben am Luftfilter des Gärkolbens angebrachten Quetschhahn die Lüftung in der Weise, daß ein Vakuum von etwa 600 mm Quecksilber in dem Apparate gebildet wird.

Die Gärung setzt schon in kurzer Zeit lebhaft ein; solange die Kohlensäureentwickelung eine starke ist, also in dem Stadium der Vergärung der leicht vergärbaren Zucker, ist das Vakuum selbstverständlich geringer, als angegeben und die Abfuhr der flüchtigen Gärungsprodukte und des Wassers erfolgt etwas langsamer, als in den späteren Stadien der Gärung, wenn die Kohlensäureentwickelung eine langsamere und die Vergärung der Zucker eine schwierigere geworden ist.

Es kommt bei sehr starker Absaugung vor, daß der Kolbeninhalt gegen das Ende der Gärung innerhalb der angegebenen Zeit dickflüssig wird, ja einige Male wurde beobachtet, daß der Inhalt eben nur noch feucht war. Auf das Endresultat ist dies indessen einflußlos, da die Gärung nach Zufuhr von Wasser wieder von neuem beginnt.

Die mit Hefe Frohberg und Saaz erhaltenen Resultate waren folgende:

	Mit Hefe Frohberg vergoren	Mit Hefe Saaz vergoren			
		I	II	III	IV
Gärdauer im Apparate	6 Tage	6 Tage	12 Tage	15 Tage	18 Tage
Rohmaltose in 100 cm	0,365 g	0,984 g	0,532 g	0,374 g	0,287 g
Rohmaltose vergoren in 100 cm	8,579 g	7,960 g	8,412 g	8,570 g	8,657 g
Rohmaltose in Extraktprozenten	2,63 Proz.	7,08 Proz.	3,83 Proz.	2,69 Proz.	2,07 Proz.
Vom Extrakt Maltose vergoren	61,72 „	57,27 „	60,52 „	61,66 „	62,28 „
Von 100 T. Rohmaltose sind vergoren	95,95 „	89,00 „	94,05 „	95,82 „	96,79 „
Von 100 T. Rohmaltose nicht vergoren	4,08 „	11,00 „	5,95 „	4,18 „	3,21 „

Aus diesen Zahlen geht hervor:

1) Daß die vollständige Vergärung der Würzezucker, insbesondere der Würze-Isomaltose, sowohl mit Hefe Frohberg als auch Hefe Saaz zu erreichen ist, daß aber Hefe Frohberg den bislang als unvergärbare Isomaltose oder als β-Isomaltose Bau's bezeichneten Zucker rascher vergärt als Hefe Saaz.

2) Der innerhalb der Versuchsfehler liegende, von beiden Hefen unvergorene, als Rohmaltose bestimmte, reduzierende Würzeanteil von 0,287 bis 0,365 g in 100 cm trifft in der Hauptsache auf Achroodextrin.

3) Der nach Erreichung des Delbrück-Irmisch'schen Endvergärungsgrades mit den Hefen Frohberg und Saaz zurückgebliebene Rohmaltoserest trifft auf Achroodextrin und Isomaltose mit dem Unterschiede, daß der unvergorene Isomaltoseanteil bei Saaz größer ist als bei Frohberg.

4) Der wirkliche oder wahre Endvergärungsgrad, d. h. die Vergärung der Würzezucker bis auf die Dextrine, kann vermittelst der Berliner Methode nicht erreicht werden, ist also bisher auch noch nicht erreicht worden.

Die vollständige Vergärung der Würzezucker mit Hefe Saaz ist nur dann möglich, wenn günstige Temperatur, Lüftung, Bewegung und Abfuhr der flüchtigen Gärungsprodukte zusammenwirken.

Den bedeutendsten Einfluß üben flüchtige Gärungsprodukte, Luft und Bewegung der gärenden Flüssigkeit aus: erstere hemmen, die beiden letzteren begünstigen die Gärung in erheblichem Maße.

Wird die Würze mit derselben Menge Hefe Saaz und gleich starker Durchlüftung ohne Abfuhr der flüchtigen Gärungsprodukte vergoren, so vergären innerhalb derselben Zeit 4—5 Proz. Isomaltose weniger, als bei gleichzeitiger Abfuhr der flüchtigen Gärungsprodukte.

Um dies zu beweisen, wurde das die flüchtigen Gärungsprodukte aus dem Gärkolben abführende Rohr mit zwei über einander geschalteten Glaskühlern, welche ständig mit Eis bezw. Eiswasser gekühlt wurden, verbunden, so daß weder Konzentration der Flüssigkeit, noch Abfuhr der flüchtigen Gärungsprodukte eintrat.

Es waren nach 6 Tagen unter diesen Verhältnissen 84,91 Proz.

der Rohmaltose vergoren gegenüber 89 Proz., also 4,09 Proz. weniger als bei der Vergärung in derselben Zeit mit vollständiger Abfuhr der Gärungsprodukte.

Gegenüber der nach Berliner Manier vergorenen Würze waren aber immerhin noch 6,73 Proz. mehr vergoren.

Bei einem anderen Versuche wurden die Gärungsprodukte abdestilliert, die Flüssigkeit also auch konzentriert, die Luft aber nicht durch die gärende Flüssigkeit, sondern über dieselbe hinweggeleitet, so daß der Einfluß der flüchtigen Gärungsprodukte beseitigt war, aber die gärende Flüssigkeit nicht bewegt und mit weniger Sauerstoff in Berührung gebracht wurde. Morgens und abends wurde der Kolbeninhalt durchgeschüttelt, damit die am Boden sitzende Hefe Sauerstoff aufnehmen konnte.

Nach 11 Tagen waren nur 84,30 Proz. der Rohmaltose, allerdings noch 6,12 Proz. mehr vergoren als nach der Berliner Methode. Wie man sieht, ist vollständige Vergärung nur möglich, wenn Sauerstoff, Bewegung und Abfuhr der flüchtigen Gärungsprodukte zusammenwirken.

Einfluß einer Bakterieninfektion auf die Vergärbarkeit der Würzezucker, wenn günstige Gärtemperatur, Lüftung, Bewegung und Abfuhr der flüchtigen Gärungsprodukte zusammenwirken.

In einem Versuche, bei welchem nach 12-tägiger Gärdauer unter den günstigsten Bedingungen nur 84,22 Proz. Rohmaltose vergoren waren, wurde Bakterieninfektion festgestellt.

Bei einem zweiten Versuche, der 9 Tage angedauert hatte, fanden sich in dem Kolben sehr viel Bakterien und waren nur 13,33 Proz. Rohmaltose vergoren.

Diese Versuche beweisen die ungemein gärungshemmende Wirkung der Bakterien; dieselben können in reichlicher Menge wie bei Versuch II die Gärung fast ganz unterdrücken.

Der Einfluß der flüchtigen Gärungsprodukte bei der Vergärung der Würzen bis zur Erreichung des Berliner Endvergärungsgrades.

Um den Einfluß der flüchtigen Gärungsprodukte der Hefe Saaz auf die Vergärung von Bierwürzen nach der Berliner Methode durch die Hefe kennen zu lernen, wurden je 200 cm ungehopfter Malzwürze — es war nicht die zu den bisherigen Versuchen dienende —, welche in 100 cm 6,672 g Rohmaltose oder 66,83 Proz. Rohmaltose im Extrakte enthielt, auf etwa 50 cm auf dem Wasserbade eingedampft. Die eine Hälfte der Würze wurde mit Wasser, die andere mit den flüchtigen, in dem zur Bestimmung der Säuren von mir angewandten Apparate aus einem Saazbiere abgeschiedenen Produkte auf 150 cm aufgefüllt. Beide wurden mit derselben Kultur Saazer Hefe geimpft und nach Berliner Art im Thermostaten bei 25° C zur Gärung angestellt.

Die Gärung der mit Wasser aufgefüllten Würze verlief in der üblichen Weise, diejenige der mit den flüchtigen Gärungsprodukten versetzten jedoch wesentlich träger; auch ging die Hefevermehrung ungleich langsamer von statten. In dem Kölbchen, welches die wäs-

serige Würze enthielt, war die Gärung schon am 5. Tage scheinbar beendet, das Bier war klar und die Hefe hatte sich vollständig abgesetzt.

In dem anderen Kölbchen hingegen zog sich die Gärung um zwei Tage länger hin, bis dieselbe vorüber und das Bier klar war und die Hefe fest am Boden lag.

Nach 9-tägigem Verweilen im Thermostaten wurden die Kölbchen untersucht. Es enthielten:

	Ursprüngliche Würze	Mit Wasser versetzte u. vergorene Würze	Die flüchtigen Gärungsprodukte enthaltende Würze
Rohmaltose in 100 cm . .	6,672 g	1,170 g	1,416 g
Rohmaltose verg. in 100 cm	0,000 „	5,502 „	5,256 „
Rohmaltose in Extraktproz.	66,83 Proz.	11,72 Proz.	14,18 Proz.
Vom Extrakt vergor. Rohmaltose	0,00 „	55,11 „	52,65 „
Von 100 T. Rohmaltose sind vergoren	0,00 „	82,46 „	78,78 „
Von 100 T. Rohmaltose sind nicht vergoren	100,00 „	17,54 „	21,22 „

Der hemmende Einfluß der flüchtigen Gärungsprodukte gab sich also auch noch dadurch zu erkennen, daß 3,68 Proz. Rohmaltose weniger vergoren wurden.

Kann die Hefeglykase der Hefe Saaz die β-Isomaltose Bau's hydrolisieren?

Obgleich diese Frage schon in bejahendem Sinne durch die vollständige Vergärung der Würzezucker mit Hefe Saaz nach meiner Vakuum-Gärmethode und den oben beschriebenen Versuch beantwortet wurde, habe ich noch einen weiteren angestellt, aus welchem unzweifelhaft hervorgeht, daß Hefe Saaz den unvergärbaren Isomaltoseanteil, die sogenannte β-Isomaltose Bau's, zu hydrolisieren vermag.

Zu diesem Behufe wurden 500 cm Versuchswürze nach Lintner's Vorschrift mit 32 g fein gepulverter, zuvor bei 40° C getrockneter Hefe Saaz versetzt und während 2 Stunden auf 40° C, der Optimumtemperatur des Enzymes, gehalten. Hierauf wurde die Hefe abfiltriert und das Filtrat im Dampftopfe mit $^1/_2$ bis $^3/_4$ Atmosphärendampf sterilisiert. Je 100 cm der hydrolisierten Würze wurden in 2 Kölbchen gebracht, mit Hefe Saaz geimpft und im Thermostaten bei 25° C zur Gärung angestellt.

250 cm der Würze wurden mit 50 g Phenylhydrazin und 50 g Essigsäure versetzt und 2 Stunden im Wasserbade erhitzt, wobei sich eine reichliche Menge Dextrosazon in der Hitze abschied, die heiß abfiltriert wurde.

Beim Erkalten der Flüssigkeit fiel ein Osazon heraus, das nach wiederholtem Umkrystallisieren als Maltosazon erkannt wurde, während sich beim Eingießen der erkalteten Flüssigkeit in viel Wasser eine große Menge eines gallertartigen, in dem überschüssigen,

essigsauren Phenylhydrazin gelöst gewesenen Osazons abschied, in welchem Isomaltosazon mit Sicherheit nicht nachgewiesen werden konnte.

Dies ist die Osazonprobe, wie ich dieselbe seit Jahren in Würzen und entgeisteten Bieren zum Nachweise der Zucker benutze. Es findet hierbei keine Verzettelung der Zucker in verschiedene Fraktionen statt, wie bei vorhergehenden Alkohol- und Aetherfällungen, und man trennt durch den Ueberschuß des Reagenzes das Isomaltosazon in der Hauptsache von den anderen Osazonen in einer Operation, worauf schon Lintner in seinen Arbeiten, soviel mir erinnerlich ist, hingewiesen hat. Man ist hierdurch auch in der Lage, in relativ kleinen Mengen Würze oder Bier die Zucker namentlich die Isomaltose nachzuweisen. Ich habe gefunden, daß die letztere fast stets anwesend ist, wenn sich das erkaltete und filtrierte klare Reaktionsgemisch beim Eingießen in viel Wasser getrübt hat.

In den Würzen, in welchen nach meiner Methode 94—96 Proz. der Rohmaltose vergoren sind, trat nicht mehr die Spur einer Trübung ein.

Die geimpften Würzen blieben verschieden lange im Thermostaten stehen, da sich die Gärung ersichtlich in die Länge zog.

Folgendes sind die Resultate:

	I	I	II	II
Gärdauer	8 Tage	13 Tage	8 Tage	19 Tage
Rohmaltose in 100 cm	1,44 g	1,22 g	1,316 g	1,020 g
Rohmaltose vergor. in 100 cm	7,504 „	7,724 „	7,628 „	7,924 „
Rohmaltose in Extraktprozenten	10,35 Proz.	8,78 Proz.	9,47 Proz.	7,34 Proz.
Im Extrakt vergor. Rohmaltose	54,00 „	55,57 „	54,88 „	57,01 „
Von 100 T. Rohmaltose sind vergoren	83,91 „	86,36 „	85,29 „	88,60 „
Von 100 T. Rohmaltose sind nicht vergoren	16,09 „	13,64 „	14,71 „	11,40 „

Da der Delbrück-Irmisch'sche Endvergärungsgrad 78,18 Proz. Rohmaltose bei Saaz und 87,99 Proz. bei Frohberg ergab, wurden infolge der Inversion 10,5 Proz. Rohmaltose durch Saaz mehr vergoren und mit Hefe Saaz derselbe Endvergärungsgrad nach der Berliner Methode erreicht, welchen Frohberg nach der Berliner Methode ohne vorherige Inversion erzielte.

Nach der Hypothese von Bau, Munsche, Delbrück u. A. hätte, da Hefe Saaz kein β-Isomaltose spaltendes Enzym enthalten soll, nicht mehr Rohmaltose vergären können, als in der nicht invertierten Würze, somit der unvergorene Isomaltoserest gleich bleiben müssen. Nachdem dies aber nicht der Fall war, hat unzweifelhaft Hydrolyse der sogenannten β-Isomaltose Bau's stattgefunden. Aber auch das Kohlehydrat, welches mit Phenylhydrazin eine gallertartige Verbindung bildet, scheint bei der Inversion in größerer Menge gebildet worden zu sein.

Es wurde zur Beseitigung jeden Einwandes noch ein zweiter Versuch gemacht, um zu beweisen, daß die Hefeglykase von Hefe Saaz die β-Isomaltose Bau's zu hydrolysieren vermag. Hierzu wurde

eine durch Hefe Saaz vergorene Würze, welche 28 Tage im Thermostaten bei 25° C gestanden hatte, benützt. Die vergohrene Würze wurde zunächst durch Filtrieren von der Hefe befreit, durch Eindampfen entgeistet und alsdann mit bei 40° C getrockneter Hefe Saaz während 3 Stunden bei 40° C invertiert. Die invertierte Flüssigkeit wurde nach dem Filtrieren mit Hefewasser aufgefüllt, im Dampftopf sterilisiert und mit Hefe Saaz im Thermostaten bei 25° C in gewöhnlicher Weise zur Gärung angestellt. Folgendes sind die Resultate:

Rohmaltosewert der Flüssigkeit vor der Gärung in 100 ccm	1,950 g
Rohmaltosewert der invertierten vergorenen Flüssigkeit in 100 ccm nach 21 Tagen	0,822 g
demnach durch Hefe Saaz vergorene sog. β-Isomaltose	1,128 g
	oder 57,8 Proz.

Zu bemerken ist, daß die Gärung ungemein langsam, aber sehr andauernd von statten geht, ein Beweis, daß selbst die letzten Reste leicht diffundierender Zucker (Glukose) schwierig, namentlich bei Anhäufung der Gärungsprodukte und sonstiger Würzebestandteile, vergären. Die Gärung war nach 21 Tagen noch nicht ganz vorüber und, wenn auch kaum, doch noch deutlich merkbar. Ein zweites Kölbchen, welches mit dem ersten gleichzeitig in den Thermostaten gebracht wurde, ließ ich deshalb zu weiterer Beobachtung noch stehen. Ich werde dasselbe später untersuchen.

Die gegen meine Gärungsmethode erhobenen Einwände.

Bau hat gegen die Methode als solche keinen Einspruch erhoben, denn er sagt[1]: „Es läßt sich aber nicht leugnen, daß der neuen Methode Prior's ein ausgezeichneter Gedanke zu Grunde liegt. Wird dieses Verfahren weiter durchgebildet und zu einem exakten ausgearbeitet, so werden wir bei unseren gärungsphysiologischen Analysen wahrscheinlich bedeutend an Zeit sparen können, und das wäre ein großer Vorteil.“ Nach meiner Ansicht kann die von mir ermittelte Methode nur zur Bestimmung des Gesamtwürzezuckers dienen; auch wird dieselbe mit Vorteil angewendet werden können, wenn es sich darum handelt, Fragen zu entscheiden, wie sie von Fischer und Thierfelder zu beantworten gesucht wurden, ob eine Zuckerart durch gewisse Hefen vergärbar ist oder nicht. Ferner wird die Methode vielleicht zur Trennung der Dextrine und anderer nicht krystallisierbarer und vergärbarer Kohlehydrate, z. B. der Gummiarten, von den vergärbaren Zuckern und zu deren quantitativen Bestimmung mit Erfolg Verwendung finden können. Ich gedenke später hierüber zu arbeiten.

Den ersten Einwand gegen die Methode erhob Munsche[2]. Er hält es nämlich für möglich, daß die Hefe die Zucker hierbei assimiliere, ohne dieselben zu vergären oder daß eine anderweitige Zerlegung der Zucker durch die Hefe stattfindet.

---

1) Wochenschrift für Brauerei. 1895 No. 19 p. 432.
2) Wochenschrift für Brauerei. 1895 No. 19 p. 436.

Damit stellt sich Munsche in Widerspruch mit Delbrück, welcher über „Schnellgärung" in der Wochenschrift für Brauerei, 1892 p. 696 Folgendes sagt: „Da giebt es ein neues Verfahren, das sogenannte Lufthefeverfahren, auch Würzeverfahren genannt. Bei diesem Verfahren, welches **auch wir in unserer Versuchs- und Lehrbrauerei verwenden**, zwecks Erzeugung großer Massen von Hefe, wird die Gärung nicht mehr in Tagen, sondern nunmehr thatsächlich in Stunden vollzogen. Große Mengen von Würze — unser großer Gärbottich, den wir zu diesem Zwecke aufgestellt haben, faßt 8000 l; er wird zur Hälfte mit Würze gefüllt, also etwa mit 3—4000 l — **vergären** bei diesem Verfahren in 7 Stunden, und zwar Saccharometeranzeigen von 10—12, unter Umständen herunter bis auf 2 und sogar $1^1/_2$." (Es entspricht diese Vergärung einem scheinbaren Vergärungsgrade von 80 bis 87,5 Proz. Prior.)

Welches sind nun die Mittel, welche dabei angewendet werden, um eine so schnelle Arbeit zu erzielen? Das ist erstens eine sehr hohe Temperatur, die auf 24° R (30° C Prior) gehalten wird. Man läßt sie nicht höher kommen, weil das die Hefe schädigen würde und auch nicht tiefer, weil dies die **Gärung** verlangsamen würde — außerdem aber **„die Anwendung eines gewaltigen großen Luftstromes"**. Ferner: „Es ist interessant, zu sehen, wie das wallt und wogt, Kohlensäure mit Luft gemischt entweicht, ein starker Geruch nach Alkohol sich entwickelt, der, mit dem Hefegeruch vermischt, die Luft erfüllt."

Ferner sagt Delbrück: „Die Brauereiwürze, die fast 14 Proz. — in diesem Falle 13,6 Proz. — hat, haben wir zu vergären versucht, und zwar mit der Anwendung verschiedener Mengen Hefe. Daß ich dies Ziel nicht mit der in der Brauerei üblichen Hefemenge erreichen würde, war von vornherein klar. Ich ließ deshalb die Hefe in Stufen von $2^1/_2$, 5 und 10 Proz. verwenden, während man in der Brauindustrie gewöhnlich $^1/_2$ Proz. verwendet; es war das also eine starke Gabe. Da gelang es, die **Gärung** z. B. in 4 Stunden mit dem geringsten Hefequantum von 13,6 auf 8,4, mit den größeren auf 7,4, mit dem stärksten auf 5,4 zu führen. Also bei der Temperatur von 24° R ist man, wenn man große Mengen Hefe verwendet, imstande, diese Würze, die zum Ausstoß als fertiges Bier auf etwa 5 vergärt, in 4 Stunden fast bis zu derselben **Vergärung** zu bringen. Wandte man aber zu dieser hohen Temperatur zugleich einen Luftstrom an, dann wurde **die Gärung** sehr viel stärker befördert; während wir vorher mit $2^1/_2$ Proz. Hefe auf 8,4 stehen blieben, wurden hier in 3 Stunden bereits $7^1/_2$ am Saccharometer erreicht und bei 10 Proz. Hefe gar 4,7, so daß eine 14-prozentige Würze in 3 Stunden **vergärt**."

Mein Verfahren ist nun nichts Anderes als das Lufthefeverfahren, bei welchem — wie Delbrück ausdrücklich im Gegensatze zu seinem Assistenten Munsche hervorhebt — die Würzen von 10—12 auf 2—$1^1/_2$ vergären. Ich glaube nicht, daß Delbrück diesen Ausspruch gethan haben würde, wenn er nicht von dessen Richtigkeit, d. h. davon überzeugt gewesen wäre, daß bei großer Hefegabe, hoher Temperatur und starker Lüftung thatsächlich **Gärung** stattfindet und

nicht, wie sein Assistent Munsche meint, nur Kohlehydrate assimiliert oder anderweitig durch die Hefe zerlegt werden.

Es ist daher merkwürdig, daß Munsche die von mir gewählten Bedingungen für so außergewöhnliche hält. Was die Temperatur betrifft, so hat Munsche selbst bei seinen Isomaltosebestimmungen (a. a. O. p. 1372) eine Temperatur von 26° R = 32,5° C angewendet.

Daß man die **Vergärung** bei Anwendung eines luftverdünnten Raumes zur Wegschaffung der flüchtigen Gärungsprodukte noch etwas weiter treiben kann, beweisen eben meine Versuche.

Dem Einwand Munsche's stehen auch die Mitteilungen von van Laer, sowie von E. Giltay und J. H. Aberson entgegen, welche die Ansicht Delbrück's vollkommen bestätigen.

In dem von H. van Laer[1]) gegebenen Resumé befinden sich folgende Sätze;

1) Wenn eine Hefe in einer geeigneten zuckerhaltigen Flüssigkeit wächst, so ist ihre Gärkraft (d. h. das Verhältnis $\frac{Z}{H}$ des zersetzten Zuckers zur gebildeten Hefe) um so höher, unter je vollkommneren Lüftungsbedingungen die Hefe wächst.

2) Die Intensität der Zuckerzersetzung innerhalb einer bestimmten Zeit (Gärthätigkeit, Gärungsenergie) ist größer, wenn die Hefe mit reichlicher Luft in Berührung ist, als wenn sie unter Ausschluß der Luft lebt.

Endlich sagt van Laer über alkoholische Gärung ohne Hefeneubildung: „Wenn eine Hefe, die sich nicht vermehren kann, sich in einer geeigneten Nährflüssigkeit befindet, wächst sowohl das Gärvermögen als auch die Gärthätigkeit der Zellen, wenn die Flüssigkeit während der Gärung gelüftet wird."

Munsche bezieht sich auf einen Ausspruch von Beyerinck, wonach die Assimilation der Zucker durch die Hefe eine ganz bestimmte Funktion der Hefezelle, unabhängig von der Gärthätigkeit derselben ist. Es muß daher, nach Beyerinck, wenn Zucker assimiliert wird, nicht notwendigerweise auch die Vergärung damit Hand in Hand gehen, obgleich dies meist der Fall ist, nämlich dann, wenn die Bedingungen zur Vergärung der Zucker, wie bei meinen Versuchen, gegeben sind. Befindet sich aber Hefe in einer Flüssigkeit unter Bedingungen, welche die Gärthätigkeit ausschließen, z. B. in reiner konzentrierter Rohrzuckerlösung (Hefeaufbewahrung nach Hansen!), so kann sie — und das ist schon länger bekannt — Kohlehydrate assimilieren, ohne dieselben zu vergären.

Daß auch bei sehr reichlicher Lüftung, ja sogar bei Sauerstoffzufuhr während der Gärung, Alkohol und Kohlensäure entwickelt wird, geht nicht allein aus den obigen Citaten Delbrück's und van Laer's, sondern, wie erwähnt, auch aus einer Arbeit von E. Giltay und J. H. Aberson[2]) über den Einfluß des Sauerstoffzutritts auf Alkohol- und Kohlensäurebildung bei der alkoholischen

1) Wochenschrift für Brauerei. 1894 No. 12 p. 353.

2) Zeitschrift über das ges. Brauwesen. 1895 p. 57, nach Jahrb. für wissenschaftl. Botanik. IV. 1893.

Gärung hervor, eine Arbeit, welche auch Krieger entgangen zu sein scheint, da Krieger[1]) gegen meine Methode den Einwand erhebt, das Verschwinden der Zucker könne ein Oxydationsprozeß und kein Gärprozeß sein. Nun haben aber die genannten Forscher nachgewiesen, daß bei starker Durchlüftung während der Gärung allerdings auch Zucker oxydiert wird, daß aber auch die Alkoholbildung hierdurch durchaus nicht aufgehoben wurde. Gewöhnliche Atmung konnte unter diesen Umständen die Gärung also durchaus nicht ersetzen. Es findet deshalb, wie ich dies in meinen früheren Publikationen schon hervorgehoben habe, neben der Gärung ein Oxydationsprozeß statt. Bei Gärungen ohne Zufuhr von Luft erfolgt dieser Oxydationsprozeß auf Kosten des von der Hefe teils mitgebrachten, teils aus der Würze aufgenommenen Sauerstoffs; infolgedessen wird weniger Zucker oxydiert als bei der Lüftung, welche der Hefe Gelegenheit bietet, immer neue Mengen Sauerstoff aufzunehmen. Gärung ohne Oxydation ist nicht möglich und nach den Versuchen von E. Giltay und J. H. Aberson auch Oxydation nicht ohne gleichzeitige Gärwirkung, d. h. nicht ohne Zerlegung von Zucker in Alkohol und Kohlensäure.

Bei den Luftkulturen von Giltay und Aberson wurden 21,6 Proz. Zucker im Mittel oxydiert. Legt man diese Zahl bei meinen Versuchen zu Grunde, so wurden 96,78—78,18 = 18,60 Proz. Isomaltose (siehe oben) durch Saaz in dem letzten Stadium der Gärung noch vergoren; hiervon sind 4 Proz. oxydiert und 14,6 in Alkohol und Kohlensäure gespalten worden.

Um mich zu überzeugen, ob bei Vergärung der letzten Zuckeranteile der β-Isomaltose Bau's nach meinem Verfahren Gärung, d. h. Alkohol- und Kohlensäureentwickelung stattfindet, habe ich bis zum Berliner Endvergärungsgrad vergorene Würze entgeistet, sterelisiert und in meinem, dem beschriebenen Apparate zur Gärung angestellt. Um die Luftkohlensäure vollständig auszuschließen, wurde die in das Filter bezw. den Gärkolben eintretende Luft durch ein ca. 30 cm langes Glasrohr, welches kleine Stückchen feuchtes Aetzkali enthielt und hierauf durch 400 ccm konz. Kalilösung (1 Teil Aetzkali in 2 Teilen Wasser) geleitet.

Nachdem auf diese Weise durch Einsaugen von kohlensäurefreier Luft während mehreren Stunden die etwa in dem Gärkolben enthalten gewesene, aus der Luft stammende Kohlensäure verdrängt war, wurde die aus dem Gärkolben austretende Luft durch eine, klares Barytwasser enthaltende Peligot'sche Röhre geleitet. Schon nach kurzer Zeit war ein Niederschlag von Baryumkarbonat entstanden und die Kohlensäure somit nachgewiesen.

Die als Vorlage dienende Saugflasche wurde zur thunlichst vollkommenen Kondensation der flüchtigen Gärungsprodukte mit Eis gekühlt und konnte ich, ebenso wie Giltay und Aberson, bei ihren Luftkulturen in dem Destillat Alkohol nachweisen. Nun wurde der Versuch unterbrochen, der Rückstand vollständig entgeistet und aufs neue zur Gärung angestellt. Das Destillat sowie die austretende

1) Amerik. Bierbrauer. 1895 No. 6 p. 305.

Luft wurden, wie angegeben, abermals geprüft. Es konnte wieder Alkohol und Kohlensäure nachgewiesen werden.

Krieger (a. a. O.) hat vorgeschlagen, die Vergärung der Würze im luftverdünnten Raume unter Zufuhr eines Stickstoffstromes zur Bewegung der Flüssigkeit durchzuführen, damit die Oxydation der Zucker sicher vermieden würde. In diesem Sinne, d. h. bei vollständigem Abschluß des Sauerstoffes, dürfte die Gärung kaum durchzuführen sein, da Sauerstoff und ein damit verbundener Oxydationsprozeß, welchen man als Atmung der Hefe bezeichnen kann, zur Vergärung notwendig ist und ohne solchen, wie die Versuche von Giltay und Aberson aufs neue dargethan haben, Gärung nicht stattfindet. Außerdem habe ich bewiesen, daß bei der Vergärung der sogenannten β-Isomaltose Alkohol und Kohlensäure gebildet wird.

Um aber zu erfahren, wie die Gärung mit Hefe Saaz bei sehr beschränktem Sauerstoffzutritte in meinem Apparate von statten geht, habe ich die Luft, ehe sie in den Gärkolben meines Apparates eintritt, von dem größten Teile des Sauerstoffs befreit, indem ich dieselbe durch eine 4 l fassende Flasche, welche mit Salzsäure befeuchteten Kupferdrehspänen gefüllt war, und hierauf noch durch weitere 3 Flaschen geleitet habe, von welchen jede 1 l alkalische Pyrogallussäurelösung enthielt. Außerdem wurde, um den Sauerstoff thunlichst zu entfernen, die Luftzufuhr soweit als möglich beschränkt und die Füllungen der Flaschen abwechselnd jeden Tag erneuert.

Die Zusammensetzung der zu diesen Versuchen dienenden Würze und das Ergebnis der Vergärung, sowohl unter den üblichen Berliner Bedingungen als auch nach meiner Methode in der beschriebenen Modifikation, ergiebt sich aus folgender Tabelle:

	Würze	Nach Berliner Methode vergoren	Nach Prior vergoren
Gärdauer	—	11 Tage	11 Tage
Rohmaltose in 100 ccm	7,256 g	1,412 g	0,176 g
Rohmaltose vergoren in 100 ccm	0,000 g	5,844 g	7,080 g
Rohmaltose im Extrakte	68,52 %	13,33 %	1,66 %
Im Extrakte vergärbare Rohmaltose	0,00 „	55,19 „	66,86 „
Von 100 Teilen Rohmaltose sind vergoren	0,00 „	80,54 „	97,58 „
Von 100 Teilen Rohmaltose sind nicht vergoren	100,00 „	19,46 „	2,42 „

Dieser Versuch beweist, daß die vollständige Vergärung der Würzezucker durch Hefe Saaz bei Abfuhr der flüchtigen Gärungsprodukte und Bewegung der gärenden Flüssigkeit auch bei beschränktem Sauerstoffzutritt und zwar in kürzerer Zeit von statten geht, als bei starker Sauerstoffzufuhr. Es scheint demnach, was auch schon von anderer Seite konstatiert worden ist, ein Uebermaß von Sauerstoff und eine allzugroße Begünstigung der Hefeatmung die Gärung eher zu hemmen, als zu beschleunigen.

Ich werde diesen Gegenstand weiter verfolgen und später über das Verhalten der Hefe im Stickstoffstrome weitere Mitteilungen folgen lassen.

Die 8 Thesen.

Aus den mitgeteilten Versuchen ergiebt sich, daß der von Delbrück, Bau, Munsche, Windisch u. A. angenommene physiologische Unterschied zwischen den Hefen Frohberg und Saaz thatsächlich nicht besteht: Beide vergären die Würzezucker vollständig, ihre Enzymwirkungen sind also auch die nämlichen.

Infolgedessen ist man zu dem Schlusse nicht berechtigt, daß die Würze zwei Isomaltosen, α- und β-Isomaltose, enthalte, denn der einzige bislang behauptete Unterschied zwischen den im übrigen sich ganz gleich verhaltenden Isomaltosen (Reduktion und Osazon) sollte ja in der Unvergärbarkeit der β-Isomaltose durch Hefe Saaz liegen.

Nun will aber Bau[1]) aus einem Reaktionsgemische, das er durch Vermaischung von Kartoffelstärke aus Gerstenmalzstärke erhielt, eine durch Hefe Saaz auch unvergärbare Isomaltose, seine β-Isomaltose, erhalten haben. Ob dieselbe die Probe besteht, d. h. nach meiner Gärmethode nicht durch Saaz vergoren wird, hat Bau nunmehr selbst zu prüfen. Vorläufig liegt der Schluß, daß auch diese Isomaltose durch Saaz vergärbar sein wird, näher, als das Gegenteil anzunehmen, da voraussichtlich bei der Einwirkung von Diastase auf ein Gemisch von Kartoffelstärke und Gerstenmalzstärke dieselben Körper gebildet werden dürften, wie bei der Einwirkung von Diastase auf Gerstenmalzstärke allein.

Es ist daher durchaus richtig, die Existenz der β-Isomaltose, bezw. einer zweiten Isomaltose in der Bierwürze und die Existenz eines besonderen Enzymes in der Hefe Frohberg, welches Hefe Saaz nicht enthalte, als Hypothese zu bezeichnen.

Diese Hypothese von Delbrück, Bau, Munsche, Windisch u. A. entspricht nicht den Thatsachen und ist durch meine Versuche in allen Teilen widerlegt. Solange nicht auf chemischem Wege der Nachweis der Bildung mehrerer Isomaltosen unter den Umwandlungsprodukten der Stärke unter dem Einflusse der Diastase erbracht ist, was wohl sicherlich noch gelingen wird, existieren dieselben für den Chemiker nicht.

Es ist allerdings nicht leicht, den Nachweis auf chemischem Wege zu erbringen, insbesondere, weil diese den Dextrinen nahe stehenden Körper nur schwierig krystallisieren und jedenfalls auch sonst große Aehnlichkeit besitzen. Lintner[2]) hat deshalb vollkommen recht mit dem Ausspruche: „Eine Frage, welche noch weit entfernt ist, in wissenschaftlich exakter Weise beantwortet zu sein, ist die, ob unter den Stärkeumwandlungsprodukten mehr als ein Isomeres der Maltose vorkommt.“

Vom gärungsphysiologischen Standpunkte aus kann, wie ich gezeigt habe, der Nachweis zur Zeit nicht erbracht werden, denn es ist ganz gleichgiltig, ob die Vergärung einer Zuckerart mit wenig oder viel

1) Wochenschrift für Brauerei. 1895. p. 435.
2) Zeitschrift für das gesamte Brauwesen. 1895. p. 70.

Hefe, mit oder ohne Abfuhr der flüchtigen Gärungsprodukte, mit oder ohne Luftzufuhr möglich ist, **wenn sie überhaupt nur möglich ist und die betreffende Zuckerart von der Hefe vergoren wird.**

Es können demnach die Hefen Frohberg und Saaz, da die Zuckerarten der Würze nach dem bisherigen Verfahren unvollständig vergären und nicht durch dieselben zu trennen sind, weder zur Analyse des Würzeextraktes, noch des Bieres, sondern mit Benützung meiner neuen Methode der Vergärung nur für summarische Zuckerbestimmungen auf gärungsphysiologischem Wege verwendet werden, wobei es auf das Resultat ohne Einfluß ist, ob man Hefe Frohberg oder Hefe Saaz verwendet.

Weil aber die Vergärung der Zucker mit Hefe Frohberg und dieser ähnlichen Hefen rascher durchzuführen ist, wird man stets Frohberghefe bezw. eine dieser ähnlichen Hefe anwenden.

Die von mir in der vorläufigen Mitteilung über diesen Gegenstand veröffentlichten 8 Schlußsätze sind durch meine Versuche in ihrem ganzen Umfange bestätigt, in den vorstehenden Auseinandersetzungen begründet und bislang weder von Munsche noch von Bau widerlegt worden. Ich habe daher nichts zurückzunehmen und halte dieselben in allen Punkten aufrecht.

Der Vollständigkeit halber seien die Thesen hier nochmals angeführt:

1) Die in den Malzwürzen enthaltene Isomaltose Lintner's ist in physiologischem Sinne ein einheitlicher Körper, da dieselbe von den in der Gärungsindustrie gebräuchlichen Kulturhefen und auch von Hefe Saaz, sowie von den Pastorianusarten und Ellipsoïdeen vergoren wird.

2) Die Hypothese von Arminius Bau, welcher sich Delbrück, Munsche, Windisch u. A. angeschlossen haben, daß der in den durch Hefe Saaz unter den üblichen Bedingungen vergorenen Bierwürzen verbleibende und unvergährbare Isomaltoserest eine besondere Modifikation der Isomaltose, sogenannte β-Isomaltose, und mit dem vergärbaren Anteil, der α-Isomaltose, stereochemisch isomer sei, kann nicht mehr aufrecht erhalten werden.

3) Die Hypothese der Berliner Versuchsstation u. A., die Hefen vom sogenannten Typus Frohberg enthielten ein drittes, die angenommene β-Isomaltose spaltendes Enzym, ist durch meine Versuche widerlegt.

4) Die diesbezüglichen Aeußerungen des Assistenten Delbrück's, Munsche, in seiner Kritik meiner Erklärung der Gährungserscheinungen sind samt und sonders irrige.

5) Die Einteilung der Hefen auf der von Arminius Bau in seiner Abhandlung über den Sammelbegriff Saccharomyces cerevisiae gewählten physiologischen Grundlage ist unhaltbar.

6) Die Hefen Frohberg und Saaz sind im gärungsphysiologischem Sinne, soweit ihr Verhalten gegen die Würzezucker in Betracht kommt, keine Hefetypen.

7) Die von Delbrück, Bau, Munsche und Windisch u. A. empfohlene und vielfach angewandte gärungsphysiologische

Methode vermittelst der Hefen Frohberg und Saaz zur Ermittelung der Würzezusammensetzung, der Zusammensetzung des Bierextraktes etc. liefert keine sicheren Resultate und ist keine exakte wissenschaftliche Methode, da der Endvergärungsgrad mit den Bedingungen wechselt, der höchst mögliche Vergärungsgrad nach dem bisherigen Verfahren nicht erreicht wird, und der unvergoren gebliebene Zuckerrest qualitativ verschieden ist.

8) Die von Delbrück und seinen Mitarbeitern aus ihren gärungsphysiologischen Untersuchungen vermittelst der Hefen Saaz und Frohberg gezogenen Schlüsse sind, soweit sie überhaupt noch aufrecht erhalten werden können, gemäß dem sub 7 Gesagten entsprechend zu berichten.

Zu These 5, die Einteilung der Hefen von Arminius Bau betreffend, ist noch folgendes zu bemerken: Bau teilt die Artengruppe der Hefen Saccharomyces cerevisiae ein in Hefen vom Typus Frohberg und Saaz und unterscheidet

1) Typus Frohberg obergärig;
2) „ Saaz „ ;
3) „ Frohberg untergärig;
4) „ Saaz „ .

Diese 4 Spezies vergären: Glukose, Fruktose, Saccharose und Maltose unter günstigen Bedingungen vollständig.

Die zwei Spezies Frohberg ober- und untergärig vergären nach Bau die α- und β-Isomaltose ebenfalls vollständig, Saaz ober- und untergärig dagegen nur α-Isomaltose und nicht β-Isomaltose.

Da das Letztere nicht richtig ist, fehlt der Bau'schen Einteilung die physiologische Grundlage.

Von der Bau'schen Einteilung bleibt daher nur übrig diejenige in obergärige und und untergärige Hefen, welche man bislang ebenfalls kannte. Dagegen ist das von Bau aufgefundene Verhalten der untergärigen Hefen Frohberg und Saaz gegen Melitriose neu, wonach dieser Zucker in Fruktose und Melibiose gespalten und vollständig vergoren wird. Die obergärigen Hefen zerlegen zwar die Melitriose auch in Fruktose und Melibiose, vergären aber nur die erstere, wie schon Loisseau nachgewiesen hat. Ob die vollständige Vergärung der Melitriose durch obergärige Hefen vermittelst meiner Methode ebenfalls möglich ist, wäre noch zu versuchen.

(Schluß folgt.)

Referate.

Fischer, Alfred, Untersuchungen über Bakterien. (Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. XXVII. 1894. Heft 1. 163 p.)

Schon im Jahre 1891 veröffentlichte Verf. Untersuchungen über die Plasmolyse der Bakterien (Ber. d. kgl. sächs. Ges. d. Wiss., math.-physik. Klasse. 1891. p. 52), welche besonders in den Kreisen der reinen Bakteriologen nicht die verdiente Beachtung gefunden haben, während sie von anderer Seite Widerspruch erfuhren. Das bestimmte Verf., seine Untersuchungen fortzusetzen und auszudehnen, als deren Ergebnis die vorliegende Arbeit erscheint. Schon in seiner ersten Abhandlung konnte er wider alles Erwarten feststellen, daß bereits sehr verdünnte Lösungen genügen, um Plasmolyse hervorzurufen. Diese Beobachtung legte den Gedanken nahe, daß bereits bei der üblichen Deckglasmethode Plasmolyse stattfinden möchte, indem der auf das Deckglas gebrachte Substrattropfen durch Verdunstung eine derartige Anreicherung erfahren müßte, daß er Bakterien zu plasmolysieren imstande wäre. In der That läßt sich bei dieser Methode Plasmolyse („Präparations-Plasmolyse") beobachten. Die üblichen Nährböden für pathogene Bakterien enthalten alle ziemlich viel Salz, mindestens $^1/_2$—1 Proz. Werden die Bakterien von diesen Substraten ohne weitere Verdünnung auf das Deckglas ausgestrichen, so entsteht auf demselben ein zur Plasmolysierung ausreichender Koncentrationsgrad der Lösung. Aber auch Blut, Eiter, Sputum etc. sind reich genug an Salz, um dieselben Erscheinungen hervorzurufen. Verdünnt man die Bakterien, vordem man sie auf das Deckglas streicht, bedeutend mit Wasser, so bleibt beim Eintrocknen die Plasmolyse aus. Werden plasmolysierte Präparate gefärbt, so hängt es von der Natur der Farblösungen ab, ob die Plasmolyse erhalten bleibt. Bei Anwendung wässeriger Anilinfarblösungen verquillt das kontrahierte Plasma in der Regel und damit verschwindet die Plasmolyse. Sie bleibt jedoch erhalten bei Anwendung gewöhnlicher alkoholischer Fuchsinlösung, Ziel'schem Karbolfuchsin, Delafield'schem Hämatoxylin. Verf. kann eine ganze Reihe von Fällen anführen, wo infolge von Nichtbeachtung der Plasmolyse bestimmte Erscheinungen ganz falsch gedeutet worden sind und wo man plasmolysierte und nichtplasmolysierte Formen als besondere Arten oder Gattungen unterschieden hat.

Auf Zusatz von Wasser wird die Plasmolyse der lebenden Zellen wieder ausgeglichen. Aehnliches ist aber auch bei einem längeren Aufenthalte der Bakterien in den plasmolysierenden Lösungen der Fall. Verf. ließ Lösungen verschiedener Koncentration von KNO_3, $NaCl$, NH_4Cl und Rohrzucker auf plasmolysierte Spirillum Undula, Cladothrix dichotoma, Choleravibrionen, Typhusbacillus, Bacillus cyanogenus und B. fluorescens einwirken. In allen Fällen wurde ein Zurückgehen und schließlich Verschwinden der Plasmolyse beobachtet. Die Schnelligkeit, mit welcher es geschieht, hängt natürlich von dem Koncentrationsgrade

der umgebenden Lösung ab, worüber man Näheres in der Arbeit selbst nachsehen möge. Es konnte festgestellt werden, daß der Ausgleich der Plasmolyse durch Eindringen der Salzteile von außen bedingt wird, welche die erforderliche Steigerung des osmotischen Druckes im Innern hervorrufen.

Zur Fixierung der Plasmolyse hatte Verf. bereits in seiner ersten Abhandlung zwei geeignete Methoden angegeben. Auch vor einer nochmaligen Prüfung haben sie Stand gehalten, doch empfiehlt es sich mit Rücksicht auf die Präparationsplasmolyse, anstatt der 5-proz. Kochsalzlösung verdünnte Lösungen, z. B. 0,5—1-proz. KNO_3, 0,25 bis 0,5-proz. NaCl, 0,25—0,5-proz. NH_4Cl anzuwenden. Für auf Agar kultivierte Bakterien schlage man folgendes Verfahren ein: „Eine winzige Spur des Agarbeleges wurde auf einem Objektträger in 3—5 Tropfen einer schwachen Salzlösung (0,5—1-proz. KNO_3, 0,25 bis 0,5-proz. NaCl) verrieben und dann sogleich ein kleines Tröpfchen davon auf dem Deckglase ausgestrichen. Diese Methode ist für die Plasmolyse aller auf Agar verschiedenster Zusammensetzung kultivierten Bakterien anwendbar und sei hiermit empfohlen. Die auf das Deckglas zu übertragenden Tröpfchen nehme man nicht zu groß, eine kleine Platinöse voll, damit das Eintrocknen schnell (3—10 Minuten) erfolgt und die Plasmolyse nicht vorher wieder zurückgeht.“ Mit der Fixierung der Plasmolyse läßt sich für gewisse Bakterien (z. B. Spirillum Undula) direkt eine Geißelbeizung nach Loeffler verbinden.

Aus der Fähigkeit der Bakterienzelle, plasmolysiert zu werden, ergiebt sich, daß sie denselben Aufbau besitzt wie die Pflanzenzelle. Bütschli's Centralkörper (Kern) existiert nicht, sondern ist nur der schwach kontrahierte Protoplast. „Dieser hat denselben Bau wie in ausgewachsenen Pflanzenzellen, er besteht aus einem der Zellwand angepreßten dünnen Schlauche (Primordialschlauch, Wandbeleg) aus Protoplasma und umschließt den Zellsaft, der den größten Teil des Zellinneren erfüllt. In dem durch Salzlösungen so leicht plasmolysierbaren Protoplast würde man erst nach Zellkernen zu suchen haben.“

Ein großer Abschnitt der Arbeit ist der Morphologie und Physiologie der Geißeln gewidmet. Seit man an allen beweglichen Bakterien Geißeln gefunden hat, gelten diese als die Bewegungsorgane, während ältere Forscher den Sitz der Bewegung in den Plasmaleib verlegten. Die plasmolytischen Untersuchungen liefern den endgiltigen Beweis, daß die Geißeln die Bewegungsorgane sind. Bei der Plasmolyse hervorrufenden Koncentration einer Lösung hört die Bewegung nicht auf; es werden die Geißeln nicht eingezogen, verhalten sich vielmehr ebenso wie im nichtplasmolysierten Zustande. Demnach sind die Geißeln keine Pseudopodien, sondern verhalten sich wie die Geißeln des Flimmerepithels und der Infusorien. In der Regel bleibt bei der Plasmolyse eine kleine Plasmapartie in Zusammenhang mit der Geißel. Wählt man die Koncentration der Lösung stärker, als zur Plasmolyse erforderlich ist, so hört die Bewegung auf, aber die Geißeln werden auch jetzt nicht eingezogen, sondern werden nur starr, wahrscheinlich infolge des Wasserverlustes (Trockenstarre). Nach Auswaschen der Lösung beginnt die Bewegung wieder. Starre der Geißeln und damit

Bewegungslosigkeit der Bakterien kann ferner hervorgerufen werden durch Mangel an Sauerstoff, durch minderwertige Nährlösungen (Hungerstarre) oder durch spezifische Stoffe (Giftstarre). Aus mangelnder Bewegung darf man noch nicht auf mangelnde Bewegungsfähigkeit, d. h. auf Abwesenheit von Geißeln schließen. Das trifft auch auf den Heubacillus zu, der immer Geißeln, außer im hautbildenden Stadium, besitzt.

Die Geißeln lassen sich in polare und diffuse Geißeln einteilen. Jene sitzen immer nur an einer bestimmten Stelle, bei den gestreckten Formen meistens an einem Ende, zuweilen stehen sie auf einer Längsseite, aber dem Ende genähert. Die polaren Geißeln sind entweder Einzelgeißeln (Choleravibrionen, Chromatium) oder Geißelbüschel (Spirillen, Bacillus fluorescens longus, Bacterium Termo, Cladothrixschwärmer etc.). Letztere bestehen bei Bacterium Termo aus 3—4, bei Bacillus fluorescens longus vielleicht aus 5—10, bei Spirillen und den Cladothrixschwärmern aus ungefähr 8—12 Geißeln. Bei Spirillum Undula verflechten sich die Geißeln eines Büschels oft zu zopfartigen Gebilden. Die Geißeln eines Büschels sind entweder alle gleich lang (Bacterium Termo, Bacillus fluorescens longus) oder in längere Haupt- und kürzere Nebengeißeln unterschieden, ohne daß bestimmte Zahlenverhältnisse obzuwalten scheinen (Spirillum Undula). „Die diffusen Geißeln bedecken bald in dichterer, bald in lockerer Verteilung die ganze Oberfläche der Bakterienzelle, so daß an ihr keine Stelle als bevorzugt erscheint.“ Die Zahl der Geißeln ist nach Arten verschieden, wurde von Loeffler für Typhusbacillen auf 12 angegeben, sie sind immer annähernd von gleicher Länge. Die Dickenverhältnisse der Geißeln scheinen auch Schwankungen zu unterliegen, doch läßt sich etwas Bestimmtes nicht sagen, weil durch die angewandte Färbungsmethode eine Quellung hervorgerufen wird. Zum Färben benutzt Verf. die Loeffler'sche Methode mit folgender Aenderung der Beize: 2 g trockenes Tannin, 20 g Wasser, 4 ccm Eisensulfatlösung (1 : 2), 1 ccm koncentrierte alkoholische Fuchsinlösung.

Oft findet man auf den Deckglaspräparaten Bakterien ohne Geißeln, während diese isoliert zwischen jenen liegen. Diese Geißeln wurden unter der Einwirkung störender Einflüsse, z. B. Verdünnung bei der Präparation, abgeworfen, und zwar in toto abgeworfen. Nun finden sich aber auch Bruchstücke von Geißeln. Ein Abbrechen infolge fieberhaft gesteigerten Schlagens ist ausgeschlossen, da den Geißeln eine gewisse Biegsamkeit zukommen muß. Nach Verf. würde sich die Erscheinung folgendermaßen erklären. Beim Schlagen verwickeln sich die Geißeln eines und desselben Individuums oder, was wahrscheinlicher ist, verschiedener Individuen. Eine gewaltsame Trennung derselben wird ein Zerreißen von Geißeln zur Folge haben, woher die Bruchstücke rühren. Geißelbruchstücke können auch dadurch auftreten, daß abgeworfene Geißeln teilweise bis zur Unkenntlichkeit verquellen. Auf störende Einflüsse reagiert die Bakterie auch durch Einrollung der Geißeln. Auch eingerollte Geißeln findet man häufig in großer Menge isoliert, und zwar sind diese entweder schon im eingerollten Zustande ab-

geworfen worden oder die im gestreckten Zustande abgeworfenen Geißeln haben sich nachträglich aufgerollt. Die lebend abgeworfenen, also auch die eingerollten Geißeln, verquellen ziemlich schnell und sind etwa in $^1/_4$—1 Stunde ganz verschwunden. Anders verhalten sich die abgestorbenen Geißeln; diese verquellen nicht. Künstlich getödtete oder abgestorbene Zellen, welche ihre Geißeln nicht abgeworfen hatten, bewahren diese noch lange Zeit, bis schließlich ihre Substanz zerstört wird, aber nicht unter den Quellungserscheinungen der lebendigen Geißeln.

Ueber die Entwickelung der Geißeln war bisher nichts Thatsächliches bekannt. Verf. hat dieselbe bei der Teilung von Spirillum Undula beobachtet. „Der erste Schritt zur Teilung besteht in der Entwickelung eines zweiten Geißelbüschels an dem anderen Ende. Die Geißeln sprossen als kurze Fädchen hervor. Ihre endgiltige Länge scheinen die Geißeln zwar schnell, aber doch sicher nicht augenblicklich zu erreichen, was wohl daraus folgt, daß in lebhafter Teilung begriffene Spirillen die jungen Geißelbüschel auf verschiedenen Stadien des Wachstums zeigen.“ Bei der Keimung der Sporen von Bacillus subtilis, einem Bakterium mit diffusen Geißeln, beobachtete Verf., daß die Keimstäbchen noch keine Geißeln entwickeln, sondern daß diese erst entstehen, nachdem die Stäbchen einige Zeit hindurch sich vermehrt haben. Allgemein erscheinen die Geißeln bei 30° ungefähr 6—7 Stunden nach der Aussaat der Sporen. Noch bevor die Bewegung der Bacillen allgemein wird, sind die Geißeln schon vorhanden und rufen durch die Schwingungen schaukelnde und wackelnde Bewegungen hervor.“ Auch hier treten die Geißeln nicht auf einmal in ihrer ganzen Länge auf, sondern wachsen allmählich. Da bei der Teilung von Bacillen mit diffusen Geißeln ihre Zahl sich nicht vermindert, so müssen zwischen den alten Geißeln neue entstehen.

An der Sporenbildung nimmt die Substanz der Geißeln nicht teil, womit es im Einklange steht, daß manche Bakterien während der Sporenbildung fortfahren zu schwärmen. Bacillus Solmsii, B. limosus, Clostridium butyricum verlieren nach Fischer die Geißeln während der Sporenbildung nicht, während bei Bacillus subtilis diese mit beginnender Sporenbildung wahrscheinlich hinfälliger werden. An Stäbchen mit reifen Sporen konnte Verf. nur selten noch einige diffuse Geißeln beobachten. Bei Involutionsformen desselben Bakteriums verhalten sich die Geißeln folgendermaßen: „Vollendete Involutionen, die blasig aufgetrieben, birn- oder citronenförmig gestaltet waren, bewegten sich nicht mehr, dagegen schwärmten Stäbchen, die nur durch größere Dicke von anderen sich unterschieden, aber doch schon als beginnende Involutionsformen aufzufassen waren, noch lebhaft umher.“ Für andere Bakterien vermutet Verf. ein Sitzenbleiben der Geißeln, namentlich für solche, bei denen während der Sporenbildung die Geißeln erhalten bleiben.

Die von Loeffler in Blutserumkulturen des Rauschbrandbacillus zuerst aufgefundenen Zöpfe verflochtener Geißeln, welche auch für andere Bakterien nachzuweisen sind, erklärt unser Verf. aus einer Verflechtung der Geißeln verschiedener Individuen, welche

später abgeworfen werden. Voraussichtlich behalten sie nach der Trennung von der Zelle noch für kurze Zeit die Fähigkeit zu eigener Bewegung.

Verf. teilt einige Angaben über die Entstehung der Cylindergonidien von Cladothrix dichotoma mit. Sie besitzen ein aus Haupt- und Nebengeißeln (8—12) bestehendes Geißelbüschel, das auf der einen Längsseite entweder der Spitze oder der Basis genähert steht. Die sich ablösenden einzelnen Glieder oder Gliederketten der Fäden von Cladothrix werden entweder durch eine Auflösung und Zersetzung der Scheide frei oder sie wandern selbständig aus ihr aus, so daß der Zelle zur Entwickelung der Geißeln Zeit und Gelegenheit geboten ist. Ein plötzliches Hervorbrechen der Geißeln, wie Zopf vermutet, ist also nicht nötig anzunehmen.

Der letzte Abschnitt der Arbeit beschäftigt sich mit der Systematik der Bakterien. Verf. tritt für eine Systematik auf Grund morphologischer Merkmale ein. Er will seinen Versuch aber zunächst beschränken auf die Stäbchenbakterien, Vibrio und Spirillen; um ihn aber mit Erfolg durchführen zu können, ist eine Nomenklaturänderung unerläßlich. Der Grundgedanke der Einteilung ist der, die Morphologie der Geißeln und Sporenbildung zu benutzen und in geeigneten Namen zum Ausdrucke zu bringen. Die erwähnten Bakterien werden zunächst in zwei Familien gruppiert: Bacillacëi und Spirillacëi. Letztere Familie enthält die Gattungen Vibrio und Spirillum. Erstere Familie wird weiter in vier Unterfamilien geteilt: Bacillëi, Bactriniëi, Bactrillëi und Bactridiëi. Ihnen gehören die in der nachstehenden tabellarischen Uebersicht verzeichneten Gattungen an.

Geißeln	Endosporen Sporenhaltige Stäbchen			Arthrosporen
	cylindrisch	spindelig	keulig	
0	Bacillus	Paracloster	Paraplectrum	Arthrobacter
Polare Einzelgeißel	Bactrinium	Clostrinium	Plectrinium	Arthrobactrinium
Polarer Geißelbüschel	Bactrillum	Clostrillum	Plectrillum	Arthrobactrillum
Diffus	Bactridium	Clostridium	Plectridium Diplectridium	Arthrobactridium

In Bezug auf weitere Einzelheiten über die Systematik muß auf die Abhandlung verwiesen werden.

Die wertvollen Untersuchungen unseres Verf.'s sind allen Bakteriologen zur Lektüre aufs angelegentlichste zu empfehlen. Der Text findet eine instruktive Illustration in 5 Tafeln, von denen vier nach Zeichnungen, eine nach Photographieen angefertigt sind.

Wieler (Aachen).

Zirn, Georg, Welchen Nutzen hat die Bakteriologie dem Molkereigewerbe bis heute gebracht? (Vortrag, gehalten in der Versammlung des schleswig-holst. Molkereibeamtenvereins.) [Landw. Wochenbl. f. Schleswig-Holstein. 1895.]

Nach einem kurzen Ueberblick über Vorkommen, Aussehen, Eigenschaften und Züchtung der Bakterien, speziell der Milchbakterien, wurden hauptsächlich die praktischen Anwendungen der Bakteriologie in der Milchwirtschaft, namentlich das wichtigste Kapitel „die Rahmsäuerung mit Zuhilfenahme von Milchsäurebakterien-Reinkulturen“ besprochen. Weigmann in Kiel hat letztere in Deutschland zuerst in die Praxis eingeführt. Die bakteriolog. Abteilung der landwirtschaftlichen Versuchsstation versendet solche Reinkulturen nach den Meiereien des In- und Auslandes. Um sich nun über die Zweckmäßigkeit der Reinkulturen in der Praxis ein möglichst getreues Bild zu verschaffen, richtete vor kurzer Zeit die bakteriolog. Abteilung an etwa 100 Meiereien, die meist mehrere Reinkulturen bezogen hatten, Fragebogen, in welchen um Auskunft über die Veranlassung zur Anwendung von Reinkulturen ersucht wurde, ob und was für ein Butterfehler vorlag, ob derselbe durch Anwendung von Reinkultur verschwunden ist, welches Urteil die Abnehmer vor und nach der Verwendung von Reinkulturen fällten, ob der Rahm pasteurisiert wurde etc.

Es liefen 71 Antworten ein und das Resultat war ein zufriedenstellendes. Hiervon war 66 mal die Veranlassung zur Anwendung von Reinkulturen ein vorhandener Butterfehler, und zwar lag 23 mal bittere, 19 mal ölige, 10 mal ölige und bittere, 5 mal ölige und fischige, 2 mal dumpfige und alte, 3 mal saure Butter, 4 mal irgend ein anderer Butterfehler vor und nur in 3 Fällen wurde die Kultur des Wissens halber angewandt.

Von diesen 66 Fällen mit Butterfehlern verschwand in 52 Fällen, d. i. in 72 %, der Fehler sofort nach Anwendung der Reinkultur, in 7 Fällen = 10 % verschwand er zeitweilig; in 1 Fall, d. h. in 2 %, nicht ganz und nur in 6 Fällen oder 9 % der Anwendung verschwand der Fehler gar nicht, blieb die Reinkultur wirkungslos.

Die Qualität der mit Reinkultur hergestellten Butter war in diesen Fällen eine durchweg befriedigende; in 2 Fällen, wo kein Fehler vorlag, trat eine Besserung der Qualität, besonders in Bezug auf Haltbarkeit, ein. Es erzielte eine mit Reinkultur hergestellte Butser auf der Halleschen Ausstellung das Prädikat hochfein und den ersten Preis, während Butter ohne Reinkultur nur als fein begutachtet wurde.

Des weiteren führt Verf. aus, daß die Bakteriologie in Bezug auf die Butterbereitung sich nicht nur auf die Entfernung von Butterfehlern beschränke, sondern daß sie durch Benutzung verschiedenartiger Bakterienarten auch ganz bestimmte Butterqualitäten darzustellen vermag. Es ist damit möglich, den Ansprüchen des Publikums, die in Beziehung auf den Geschmack der Butter sehr verschieden sind, Rechnung zu tragen, was für die Praxis höchst wert- und bedeutungsvoll ist. Die an der Kieler Versuchstation darüber angestellten Versuche ergaben bis jetzt, daß ein definitives Resultat in diesem Sinne zu erwarten ist, wenn auch die passendsten Bakterienarten für alle einzelnen Geschmacksrichtungen noch nicht bestimmt erkannt sind. 10 verschiedene Bakterienarten sind im Gebrauch, die bei gleicher Anwendung aus demselben Rahme und zu derselben Zeit feine Butter von scharfsaurem bis mild aromatischem Geschmacke herstellen lassen.

Der Schluß des Vortrages berührt noch kurz die Beziehungen der Bakteriologie zur Käsebereitung. Baier (Berlin).

Caron, E., Landwirtschaftlich-bakteriologische Probleme. (Landw. Vers. Stat. XLV. 1895. 401—418.)

Nachdem für die Leguminosen nachgewiesen war, daß sie mit Hilfe der Knöllchenbakterien den freien Luftstickstoff aufnehmen, lag es nahe, zu vermuten, daß auch für die übrigen Pflanzen die Stickstoffaufnahme zum Teil durch Bakterien vermittelt werde. Nimmt man an, das Vorhandensein der Bakterien im Boden vermöge einen günstigen Einfluß auf die landwirtschaftlichen Kulturpflanzen auszuüben, so wird man erwarten dürfen, daß umgekehrt jene Pflanzen, welche als gute Vorfrüchte bekannt sind, ihrerseits auf die Zunahme der nützlichen Bodenbakterien hinwirken werden. Die vom Verf. ausgeführten Bodenuntersuchungen scheinen die Richtigkeit dieser Annahme zu bestätigen; denn aus denselben geht zweifellos hervor, daß in warmen und trockenen Sommern unter Blattfrüchten der Reichtum des Bodens an Bakterien wächst, bezw. am Ende der Vegetationsperiode am größten ist, während er unter Halmfrüchten immer geringer wird. In noch stärkerer Weise als die Blattfrüchte wirkt die Schwarzbrache auf die Vermehrung der Bakterien, wenn sie entsprechend bearbeitet wird.

Das bessere Wachstum der Halmfrüchte nach Blattfrüchten und Brache beruht daher jedenfalls nicht nur auf chemischen und physikalischen Aenderungen des Bodens unter Blattfrüchten und Brache, sondern, wenigstens zum Teil, vielleicht zum großen Teil darauf, daß manche der in ihrer Vermehrung begünstigten Bakterienarten die Aufnahme des Stickstoffes der Luft für die nachfolgende Frucht vermitteln.

Die Proben für die bakteriologischen Untersuchungen entnahm Verf. dem Boden (einem mittelschweren bis schweren Lehm) stets aus einer Tiefe von 30 cm. Nicht in Betracht gezogen wurden bei der Beurteilung die anërobiotischen Bakterien und alle jene, welche auf Fleischpeptongelatine nicht wachsen. Verhältnismäßig selten wurden in den zur Untersuchung gelangten Bodenproben Kokken gefunden. Im übrigen ergab sich, daß die Bakterienflora des gleichen Ackers nicht nur in Bezug auf die Zahl, sondern auch auf die Arten im Frühjahr ein ganz anderes Bild bietet als im Herbst. Namentlich bei Schwarzbrache traten im Spätsommer und Herbst Bakterienarten in verschiedenen früher nicht gefundenen, meist Gelatine verflüssigenden Formen auf, während andere im Frühjahre viel beobachtete Formen zurücktraten.

Wirken die unter Blattfrüchten und bei Schwarzbrache bedeutend zur Vermehrung gelangenden Bakterien thatsächlich fördernd auf die Nachfrüchte, so können durch Impfungen mit manchen dieser Bakterienarten jedenfalls Erfolge im Ackerbau zu erzielen sein. Von dieser Erwägung ausgehend, hat Verf. aus Kleeboden eine Reihe von Bakterien isoliert, sie in Reinkultur gezüchtet und damit Kulturen, besonders von Hafer, in Blumentöpfen und auf freiem Felde infiziert. In diese Impfversuche wurden ferner auch Bakterien aus Kompost

und namentlich auch aus Wiesen einbezogen, da bekannt ist, daß umgebrochene Wiesen eine zeitlang besonders günstige Bedingungen für das Wachstum der Halmfrüchte geben. Als Impfmaterial fanden stets nur Bakterienarten Verwendung, welche sich durch besonders häufiges Vorkommen und durch schnelles und kräftiges Wachstum bei relativ niedrigen Temperaturen auszeichneten.

Bei den Versuchen in Blumentöpfen, welche 1892 mit 7 verschiedenen Stäbchenformen und einer Kokkenart in bakterienarmer Erde ausgeführt wurden, war im Durchschnitt der Ertrag der geimpften Gefäße erheblich höher als jener der nicht geimpften; er verhielt sich für die Körner wie 139:100; weniger Wert ist den viel umfangreicheren Topfversuchen des Jahres 1893 beizumessen, bei welchen die Ergebnisse durch eine Reihe während der Vegetationszeit eingetretener störender Umstände sehr beeinflußt wurden.

Im allgemeinen bedürfen die Topfversuche in nicht sterilisierter Erde jedenfalls noch mehrmaliger Wiederholung, da sich die Einzelergebnisse sehr oft doch allzusehr den Fehlergrenzen nähern, zum Teil sogar in einem dem Durchschnittsresultate entgegengesetzten Sinne ausgefallen sind. In noch höherem Grade gilt dies für die Versuche in sterilisierter Erde, obgleich Verf. gerade auf deren Ergebnisse großes Gewicht zu legen scheint.

Besser fielen die mit einer als B 8 bezeichneten, leicht Sporen bildenden Bakterienart ausgeführten Feldversuche aus. 1 Ctr. Saathafer wurde im April 1893 mit 2 l einer Kultur derselben in Fleischextraktbouillon mit 2 Proz. Traubenzucker, welche pro l 30—40 Milliarden Bakteriensporen enthielt, imprägniert und dann am nächsten Tag gedrillt. Der so behandelte Hafer zeichnete sich den ganzen Sommer hindurch im Vergleich zu dem ungeimpft gebliebenen durch etwas stärkere Bestockung, kräftigeres Wachstum und bessere Körnerbildung aus. Die beiden Parzellen wurden im nächsten Frühjahre mit Senf bestellt und dieser zeigte derartig große Unterschiede in dem Pflanzenbestande, daß sich das Lufttrockengewicht der Ernte der ungeimpften zur geimpften Parzelle verhielt wie 100:195.

Im Jahre 1894 vorgenommene Feldversuche mit Winterroggen, Winterweizen und Hafer haben dagegen wenig beachtliche Resultate geliefert. Da Verf., der sich als praktischer Landwirt, wie es scheint, in die bakteriologische Technik ganz gut eingearbeitet hat, Fortsetzung seiner Versuche in Aussicht stellt, so darf man auf seine weiteren Mitteilungen gespannt sein. Hoffentlich gelingt es ihm, den fördernden Einfluß der von ihm kultivierten Bakterien auf das Gedeihen der Kulturpflanzen durch einwurfsfreiere Ergebnisse zu erweisen.

L. Hiltner (Tharand).

Salfeld-Lingen, Vernichtung der Leguminosenpilze durch Aetzkalk. (Deutsche landw. Presse. 1894. No. 83 u. 100.)

Auf leichtem, nicht kleefähigem Boden, der mit Stallmist gedüngten Roggen getragen hatte, baute Verf. unter anderen Leguminosen Erbsen, Peluschken (*Pisum arvense*) und Linsen. Die Versuchsfläche war $^1/_4$ ha groß. Die Roggenstoppel wurde August 1893 mit Kainit und Thomasmehl, ferner auf der einen Hälfte mit

250 kg Aetzkalk (pro ha 2000 kg), auf der anderen Hälfte scharf abgegrenzt mit 551 kg Uelzener Mergel (pro ha 4408 kg, entsprechend dem Kalk- und Magnesiagehalte des Aetzkalkes) gedüngt. Zu Erbsen und Peluschken wurde außerdem im Februar Impferde von einem Erbsenfelde gleichmäßig gegeben. Die Aussaat erfolgte Ende März, bezw. Anfangs April.

Von Ende Mai an trat allmählich ein immer größer werdender Unterschied in der Entwickelung der Pflanzen zu Gunsten der Mergelparzelle hervor. Die Mergelpflanzen wurden bedeutend kräftiger und hatten dunkelgrüne Stengel und Blätter, während die Aetzkalkpflanzen immer mehr dem Stickstoffhunger verfielen. Eine im Juli vorgenommene Untersuchung ergab, daß sämtliche Mergelpflanzen und einzelne sporadisch vorkommende grüne Aetzkalkpflanzen an den Wurzeln reich mit Knöllchen besetzt waren, während die gelb gefärbten Aetzkalkpflanzen ausnahmslos ohne Knöllchen geblieben waren. Es wurden an Samen geerntet pro $^{1}/_{4}$ ha

	bei Mergel	bei Aetzkalk
von Felderbsen	614,5 kg	201 kg
„ Peluschken	653 „	342 „
„ Linsen	167,5 „	43,75 kg.

Sonach ist nur anzunehmen, daß der Aetzkalk die im Boden vorhandenen oder in der Impferde gegebenen Knöllchenbakterien getötet und dadurch die Knöllchenbildung unmöglich gemacht habe. Verf. empfiehlt daher, falls es nötig sein sollte, mit Aetzkalk zu düngen, denselben schon zu der den Leguminosen vorhergehenden Halmfrucht zu geben.

Gegenüber dem Einwande von K. de Vrieze-Groningen (vgl. Deutsche landw. Presse. No. 96), daß bei diesen Versuchen wahrscheinlich der Lehmmergel eine Bodenimpfung mit den Knöllchenerregern verursacht habe, weist Verf. auf die von ihm auch auf der Aetzkalkparzelle ausgeführte Impfung mit Erbsenerde hin, welche reichlich Knöllchenbakterien enthielt und daher bei Abwesenheit von Aetzkalk jedenfalls zur Wirkung gelangt wäre. Die Ergebnisse seines Versuches für alle Bodenarten verallgemeinern zu wollen, wäre allerdings falsch. L. Hiltner (Tharand).

Tracy, S. M., and **Earle, F. S.,** New species of parasitic Fungi. (Bulletin of the Torrey Botanical Club. Vol. XXII. 1895. No. 4. p. 174—179.)

Folgende Arten werden als neu aufgestellt:

Puccinia notabilis III. Auf Pluchea borealis? (Arrowwood.) Rio Penasco, New Mexico. — Puccinia Paspali II—III. Auf Paspalum virgatum, New Orleans, La. — Ustilago Crus-Galli. Auf Panicum Crus-Galli, Salt Lake City, Utah. — U. tunglinensis. Auf Ischaemum ciliare, Tonglin, Singapore. — U. ornata. Auf Leptochloa mucronata, Starkville, Miss. — U. pertusa. Auf Setaria macrochaeta, Queensland. — U. pustulata. Auf Panicum proliferum, Starkville, Miss. — Dimerosporium Magnoliae. Auf den lebenden Blättern von Magnolia Virginiana, Ocean Springs, Miss. — Asteridium Illicii. Auf den

lebenden Blättern von Illicium floridanum, Ocean Springs und Biloxi, Miss. — Laestadia illiciicola. Auf den lebenden Blättern von Illicium floridanum, Ocean Springs, Miss. — Sphaerella Andromedae. Auf den lebenden Blättern von Pieris nitida, Ocean Springs, Miss. — Lembosia angustiformis. Auf Ilex coriacea, Ocean Springs und Biloxi, Miss. — L. prinoides. Auf Ilex coriacea, Biloxi, Miss. — L. illiciicola. Auf Illicium floridanum (in Gesellschaft mit Asteridium Illicii), Ocean Springs, Miss. — Vermicularia Stachydis. Auf abgestorbenen Stengeln von Stachys affinis, Starkville, Miss. — Diplodia minuta. Auf den lebenden Stämmchen von Tecoma radicans, mit Pestalozzia breviaristata gesellig, Starkville, Miss. — D. Sassafras. Auf den lebenden Aestchen von Sassafras, Starkville, Miss. — Hendersonia taphrinicola. An Taphrina auf Quercus Virginiana, Ocean Springs, Miss. — Pestalozzia Cliftoniae. Auf den lebenden Blättern von Cliftonia ligustrina, Ocean Springs, Miss. — P. breviaristata. Auf den lebenden Stämmchen von Tecoma radicans, mit Diplodia minuta gesellig, Starkville, Miss. — Scolecotrichum punctulatum. Auf Iris pabularia, Starkville, Miss. — Cercospora flexuosa. Auf den Blättern von Diospyros Virginiana, Biloxi und Ocean Springs, Miss. — C. graminicola. Auf den verwelkten Blättern von Phleum pratense, Starkville, Miss. — C. Hibisci. Auf den lebenden Blättern von Hibiscus esculentus, New Orleans, La. — C. maritima. Auf Croton maritimum, Horn Island, Miss. J. B. de Toni (Padua).

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Prior, E., Reinhaltung und Reinigung von Betriebshefen. (Bayer. Brauer-Journal. Jahrg. V. 1895. No. 6. p. 61.)

Delbrück, M., Natürliche Hefenreinzucht. (Wochenschr. f. Brauerei. Jahrg. XII. 1895. No. 4, 5 u. 6. p. 65, 89 u. 121.)

Hansen, E. Chr., Ueber künstliche und natürliche Hefenreinzucht. (Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen. Jahrg. XVIII. 1895. No. 14. p. 113.)

Delbrück, M., Die natürliche Reinzucht in der Praxis. Vortrag auf d. 13. ordentl. Generalvers. d. Vereins „Versuchs- und Lehranstalt für Brauerei in Berlin“. (Wochenschr. f. Brauerei. Jahrg. XII. 1895. No. 30. p. 732.)

Der Inhalt der erstgenannten Abhandlung ist im wesentlichen der folgende: Bis zu dem Zeitpunkte der Einführung planmäßig ausgewählter Heferassen erfolgte die Reinhaltung und Reinigung der Hefe in den Brauereien nach den empirisch durch die Erfahrung ermittelten Methoden. Ebenso wie Verf. früher den Versuch gemacht hat, die Gärungserscheinungen, wie sie sich in der Praxis abspielen, zu erklären, wird er jetzt auch die bislang zur Reinhaltung und

Reinigung von Betriebshefen eingeschlagenen Verfahren zu erklären versuchen und die Mittel und Wege andeuten, welche etwa einzuschlagen wären, um die im Betriebe eingeführte Stellhefe rein zu halten, bezw. von den aufgenommenen Verunreinigungen zu befreien.

Die Stellhefe der Brauereien ist zur Zeit entweder Reinzucht, d. h. Hefe aus einer einzigen Zelle nach Hansen's Methode gezüchtet, oder gewöhnliche Betriebshefe, wie sie sich in den Bottichen anfällt. Letztere kann entweder von einer Reinkultur abstammen oder nicht; im letzteren Falle nennt Verf. sie „ungereinigte Hefe“. Der Kampf ums Dasein macht sich hier wie anderswo geltend. Diejenige Art, welche die besten Bedingungen hat, wird die Siegerin. Die Kulturhefe muß deshalb im Uebergewicht sein, was erzielt wird 1) durch eine entsprechend große Hefegabe, 2) durch eine normal zusammengesetzte Würze und 3) durch passende klimatische Verhältnisse, d. h. Einhaltung der für die Entwickelung der Kulturhefen günstigsten Temperaturen während der Gärung. Die Kulturhefe muß hinlänglich gärtüchtig sein; Verf. hat früher [1]) gezeigt, daß die wilden Hefen eine besonders hohe Gärungsenergie besitzen, welche er durch ein größeres Durchlässigkeitsvermögen der Zellen erklärte. Alles dies gilt, wenn die Rede von der Anwendung reingezüchteter Hefe ist; eine andere ist die Sachlage, wenn man gewöhnliche, unreine Betriebshefe anwendet. Dieselbe besteht nämlich bisweilen, außer den wilden Hefen, den Bakterien und den Schimmelpilzen, aus mehreren Kulturhefearten. Ist das Verhalten z. B. eine wilde Hefe und zwei Kulturhefen, so wird die wilde Hefe möglicherweise siegen, indem die zwei Kulturhefen einander vernichten. Dieses Verhalten kann man oft in der Praxis, wo keine Reinzucht angewendet wird, beobachten. Auch zu anderen ungünstigen Resultaten wird man gelangen können, indem bald die eine Kulturart, bald die andere das Uebergewicht bekommt. Der Vergärungsgrad wird dadurch verschieden und man bekommt ein ungleichartiges Produkt. Diese Aufklärungen haben jetzt eine besondere Bedeutung, da man an einzelnen Stellen der Ansicht ist, daß Mischungen zweier Kulturhefen anzuwenden seien. Verf. spricht sich hierüber folgendermaßen aus: „Es ist deshalb durchaus irrig, zu glauben, durch Verwendung von zwei Heferassen sei man in der Lage, Bier mit konstanten Eigenschaften zu erhalten, wie dies von belgischen Zymotechnikern behauptet worden ist. Es ist natürlich sehr wohl möglich, in dem einen oder anderen Falle mit Gärungssymbiose günstige Resultate zu erzielen, allein niemals wird ein gesicherter Betrieb und ein Bier von konstanten Eigenschaften auf diesem Wege zu erhalten sein. Der einzige dieses Ziel erreichende, absolut sichere Weg ist die Verwendung rein gezüchteter Hefe nach Hansen's Methode.“ Durch fortgesetzte Verwendung einer unreinen Stellhefe könne man vielleicht unter gewissen günstigen Verhältnissen eine Reinzucht erzielen, Sicherheit dafür hat man aber keineswegs,

1) Bayer. Brauer-Journ. Jahrg. IV. 1894. — Referat in dieser Zeitschrift. Bd. I. 1895. No. 9/10. p 373.

und ob es dann die gewünschte Art oder Rasse wird, ist wieder eine Frage.

Verf. bespricht ferner, wie in der Obergärung eine Selbstreinigung und Auswahl der Hefe in einem Maße stattfindet, wie sie in den Untergärungsbrauereien nicht möglich ist. Die verschiedenen Methoden der letztgenannten Brauereien werden erwähnt, nämlich die Herführung der Hefe, das Darauflassen und das von Hansen vorgeschlagene Verfahren, nach welchem man, um die Entwickelung der Kulturhefe zu begünstigen, eine Reihe nach einander folgender Züchtungen unternimmt, indem man immer von der im Anfange der Hauptgärung neugebildeten Hefe ausgeht. Hierauf beruht ein Verfahren, nämlich das Umpumpen der gärenden Würze in andere Bottiche nach dem Ankommen der Gärung. Die letztgenannte Methode wird auch in der Weise angewendet, daß man die Würze mit dem doppelten Quantum Hefe wie gewöhnlich zur Gärung bei 7° R anstellt und die Gärung bei 8° R nicht überschreitender Temperatur durchführt. Dieses Verfahren eignet sich besonders zur Reinhaltung reingezüchteter Hefe.

Verf. schließt seine Abhandlung, indem er die wirkliche Reinzucht und den periodischen Ersatz der im Betriebe verunreinigten Hefe durch neue Reinzucht derselben Rasse empfiehlt. Nur dadurch erhält man Sicherheit im Betriebe und ein Produkt von gleichmäßiger Beschaffenheit.

Während Prior also vollständig auf dem Standpunkte Hansen's steht, ist dies dagegen nicht der Fall mit Delbrück. Der letztgenannte Verf. faßt Hansen's System nur als Einzellzucht auf und spricht die Ansicht aus, „daß es eine Arbeitsweise bedingt, welche an sich eine innere Entwickelung nicht mit sich bringt“. Ferner, daß „Anfang und Ende der modernen Arbeitsweise in drei Gedanken liegt: 1) Aussaat von Reinhefe, rein in der Rasse und rein von Spaltpilzen; 2) Verwendung eines sterilen Gärsubstrates; 3) Abhaltung jeder von außen hinzutretenden Infektion“. Endlich sagt Delbrück, daß „dieses System etwas Starres, nicht Entwickelungsfähiges und den Fortschritt Ertötendes an sich hat“ und macht den Vorwurf, „daß es, wie es erfunden war, auch fertig war“. Diese letzte Aeußerung ist doch vielmehr ein Lob. Delbrück's Auffassung von Hansen's System ist indessen eine irrige; das Point darin ist das planmäßige Auswählen einer passenden Art oder Rasse; die Einzellzucht ist nur ein Hilfsmittel, nicht der Hauptpunkt. Dieses Verfahren nennt Verf. ein „künstliches“ System im Gegensatze zu den im Brauerei- und Brennereibetriebe ohne wirkliche Reinzucht angewandten Methoden der Hefebehandlung, welche er „ein natürliches System“ benennt.

Für diese sogenannte „natürliche Reinzucht“ stellt Verf. eine Menge „Gesetze“ auf; alle dieselben hier zu erwähnen, würde uns aber zu weit führen. Nur einige sollen hier mitgeteilt werden, z. B. 1) Die natürliche Reinzucht ist die Folge der sich durch die Rasseneigenschaften und die gesamten Kulturverhältnisse ergebenden Sonderung der Mikroorganismen, insbesondere der Hefenrassen von einander. 2) Der „natürlichen Reinzucht“ steht gegenüber die „künst-

liche“, das ist die durch mechanische Mittel bewirkte Absonderung einer einzelnen Zelle und Weiterentwickelung dieser unter mechanischem Ausschluß der Infektion. 3) Nur die „künstliche Reinzucht“ führt zur absoluten Reinkultur; ihre Erkenntnis ist die Voraussetzung der Erkenntnis der Gesetze der „natürlichen Reinzucht“, denn nur die erstere giebt die Sicherheit der Rasseneinheit und die Möglichkeit der Identifizierung u. s. w. Indessen räumt Verf. ein, daß das System der „natürlichen Reinzucht“ keineswegs bestimmt sein kann, dasjenige der „künstlichen Reinzucht“ zu verdrängen; er aber fügt hinzu, daß, „nachdem diese den Sieg definitiv in den Gärungsgewerben erlangt hat, nunmehr ihre Ergänzung durch die natürliche Platz zu greifen hat“.

Die Hauptsumme der Abhandlung kann in folgendem zusammengefaßt werden: Die „natürliche Reinzucht“ ist diejenige, welche in einer Brauerei, Brennerei u. s. w. stattfindet, wo ein rationelles Verfahren gebraucht wird, rücksichtlich derjenigen Hefenart oder Rasse, von der man wünscht, daß sie im Uebergewichte sein, bezw. die Gärung allein durchführen soll. Infolgedessen gilt es, der Kulturhefe so günstige Bedingungen wie möglich zu geben und den wilden Hefen, Bakterien und Schimmelpilzen, so ungünstige wie möglich. Daß diese zwei Gruppen erforderlicher Faktoren natürlicher Weise in vielen Fällen einander aufheben werden, scheint Verf. indessen ganz übersehen zu haben. Um diese Manipulationen in der Praxis ausführen zu können, ist es also vor allen Dingen notwendig, die einzelnen Rassen und Arten sowohl der Kulturhefe als der wilden Hefe, der Bakterien und der Schimmelpilze genau zu kennen; dazu gehört aber gerade, diese in absoluten Reinkulturen zu studieren, was nur möglich ist durch Hilfe der sogenannten „künstlichen Reinzucht“. Das Hauptresultat wird also, daß ohne „künstliche Reinzucht“ keine „natürliche Reinzucht“ stattfinden kann, und dazu kommt ferner, was im Vorhergehenden gesagt wurde, daß es in vielen Fällen unmöglich sein wird, der Kulturhefe günstige Bedingungen und gleichzeitig den Krankheitsformen ungünstige Bedingungen zu geben.

Verf. führt einige Experimente von Munsche an, welche unternommen wurden, um die Frage: „Welchen Einfluß hat die niedere Gärtemperatur?“ zu beantworten. Verf. giebt folgende Antwort: „Meine Erfahrungen hierüber lehren, daß die niedere Gärtemperatur kein Mittel ist, um Kulturhefen von wilden Hefen zu trennen; im Gegenteil muß in der niederen Gärtemperatur der untergärigen Brauerei geradezu die Ursache der vielfachen und beklagenswerten Infektionen mit wilden Hefen gesucht werden.“ Munsche züchtete dreimal nach einander bei 11 ° R eine Mischung aus 90 Proz. Frohberghefe und 10 Proz. einer wilden Hefe. Das Resultat wurde, daß die Menge der wilden Hefe nach der letzten Züchtung nur 0,9 Proz. ausmachte. Der Versuch wurde wiederholt und diesmal war die wilde Hefe aus der Mischung vollständig verschwunden. Durch die Anwendung einer Temperatur von 3—4 ° R bekam er dagegen das entgegengesetzte Resultat. Der Inhalt von wilder Hefe wurde nicht geringer, sondern wuchs sehr schnell bis 30,7 und 37,5 Proz., in einem Falle sogar bis 59,7 Proz. Die Hefe Saaz konnte ebenfalls

durch Züchtung bei 7° R vollständig von ihrem ursprünglichen Inhalte von 10 Proz. wilder Hefe befreit werden.

Diese Verhältnisse kommen auch im Betriebe vor und als Beispiel werden die böhmischen Brauereien angeführt, wo die Gärung zu kalt geführt wird. Was besonders gefährlich in den Untergärungsbrauereien ist, sind diejenigen wilden Hefen, welche sehr niedrige Temperaturen ertragen können. In Zusammenhang hiermit bespricht Verf. das von Grünwald eingeführte Verfahren und schlägt vor, die Gärung in Zukunft bei höheren Temperaturen zu führen. Das amerikanische Gärsystem empfiehlt er besonders.

In der genannten Erwiederung von Hansen kritisiert dieser Forscher die Ausführungen Delbrück's und zeigt, daß die von Delbrück gegebene Einteilung in „künstliche" und „natürliche Hefereinzucht" eine ganz willkürliche ist und gar nicht mit den wirklichen Verhältnissen übereinstimmt. Wenn Delbrück Hansen's Reinzuchtsystem als mechanisch bezeichnet, so ist dies nicht richtig; dasselbe ist im Gegenteile ein botanisch-biologisches. Im Gegensatze zu der Behauptung Delbrück's hat dieses System gerade eine reiche Entwickelung mit sich geführt; ein lebhaftes Zeugnis davon sind namentlich die zahlreichen zymotechnischen Laboratorien, in welchen jetzt botanisch-biologisch gearbeitet wird, während früher die Chemie allein da Herrscherin war. Delbrück scheint zu meinen, Hansen habe keine Rücksicht auf die Variation genommen; dies ist nur ein Zeichen, daß Delbrück nicht die Hansen'schen Arbeiten mit hinlänglicher Aufmerksamkeit studiert hat. Schon in seiner Abhandlung aus dem Jahre 1883 finden sich experimentelle Untersuchungen in dieser Richtung. Im Jahre 1889 stellte Hansen neue Varietäten oder Species auf, welche bisher unter den verschiedensten Züchtungsverhältnissen ihre neuerworbenen Eigenschaften bewahrt haben. Es sind die einzigen positiven Resultate in dieser Beziehung, welche bisher erreicht wurden, und was wir überhaupt von der Variation der Alkoholhefen wissen, verdanken wir im wesentlichen Hansen.

Während in der obenstehenden Abhandlung von Delbrück ein Angriff auf Hansen und dessen von Delbrück sogenannte „künstliche Reinzuchtsystem" liegt, schenkt er in seinem letzten auf der Generalversammlung in Berlin im Juli d. J. gehaltenen Vortrage Hansen und dessen Arbeiten volle Anerkennung.

„Nicht bloß unsere Anstalt", sagt Delbrück, „in ihrer ganzen Forschungsrichtung, in ihrer ganzen Konstruktion des Unterrichts, ist auf dem Hansen'schen System aufgebaut, sondern die gesamten deutschen Schulen sind das ebenfalls, und Deutschlands Brauerei-Erziehung ist nach der Richtung hin, meiner Auffassung nach wenigstens, beendet." Von der Bezeichnung „künstliche Hefereinzucht" sagt Delbrück, er habe nicht „gekünstelte" oder „erkünstelte" oder „unnatürliche Reinzucht" damit gemeint.

Auch in diesem Aufsatze verweilt Delbrück wieder einseitig bei der Technik der Reinzucht, geht aber leicht über den biologischen Gedankengang hin, welcher doch gerade der hervorragende in den Untersuchungen Hansen's und im Systeme der Reinzucht ist. Seiner

Aeußerung, daß Hansen's System etwas Konservatives, den Fortschritt Ertötendes an sich habe, fügt Delbrück jetzt folgende Erklärung hinzu: „Diese wissenschaftliche und praktische That Hansen's stand so groß da, daß sie hypnotisierend wirkte. Man glaubte nun hierin das Zentrum gefunden zu haben, um das sich Alles gruppieren müsse, und so sind dabei in der That — deshalb sage ich: „es habe etwas Konservatives an sich" — naheliegende, wichtige Sachen übersehen worden. Zu diesen wichtigen Sachen rechne ich unter anderen die Gesetze der natürlichen Hefereinzucht."

Delbrück wird indessen gegen die „künstliche Hefereinzucht" Hansen's kämpfen und ein Mittel dazu meint er gerade in seiner „natürlichen Reinzucht" gefunden zu haben. Delbrück geht in seinen Ausführungen eigentlich davon aus, daß wir die zahllosen Hefearten aus dem Grunde kennen und daß die schädlichen in ihrem biologischen Verhalten als eine besonders abgegrenzte Gruppe den guten Kulturarten gegenüberstehen. Mit anderen Worten, was von der einen wilden Hefeart gilt, das gilt auch von der anderen, und was von der einen Kulturart gilt, das gilt auch von der anderen. Das ist indessen ein Irrtum und wir müssen erinnern, daß wir überhaupt nur eine verhältnismäßig geringe Anzahl von Hefearten kennen.

Es ergiebt sich von selbst, daß der intelligente Praktiker, welcher sich die mannigfaltigen biologischen Resultate angeeignet hat, sehr viel machen kann, um seine Reinzucht vor Unfällen zu wahren, und wahrscheinlicher Weise ist es auch das, was Delbrück eigentlich will. Wenn aber die sogenannte „natürliche Reinzucht" mit der von Delbrück genannten Hansen'schen künstlichen Reinzucht gleichgestellt wird, so ist dies ein Irrtum, der nur Verwirrung bringen und der Praxis schaden wird.

Die Ausweisungen Delbrück's für die Praktiker sind teils auf die früheren Untersuchungen Hansen's und anderer Forscher über das Verhalten der wilden Hefearten zu den Kulturarten, teils auf neue Untersuchungen basiert, welche in der Berliner Station ausgeführt sind. Letztere werden genauer in dem Vortrage erwähnt. Das Hauptresultat nennt Delbrück „die Kunstgriffe der natürlichen Reinzucht" und giebt folgendes Résumé:

Der Ausgangspunkt der Hefeführung ist die absolute Reinhefe nach Hansen. Dieselbe bleibt indessen in den Brauereien nicht Reinhefe, es hemmt immer die eine oder die andere Infektion, welche so viel wie möglich eingeschränkt werden muß. Die Aufgabe der „natürlichen Reinzucht" sollte dann diejenige sein, die Entwickelung dieser Infektion zu hindern. Die dazu notwendigen Kunstgriffe sind die folgenden: Schnelles Kühlen, so schnell wie möglich Zusatz der Hefe zur Würze, nicht zu kalt anstellen. Dann Reinigung durch Beobachtung der Schichtenbildung und, soweit nötig, nach 24 bis 42 Stunden Einpumpen, wenn man Infektion beobachtet. Endlich grün fassen, nicht lauter schlauchen, nicht auf Bruch arbeiten. Vor allen Dingen aber schnell arbeiten: Schnellgärung! Dazu ist eine Erhöhung der Temperatur des Gärkellers erforderlich, damit die Gärung auf 6—8 Tage reduziert werden kann.

Dies empfiehlt Delbrück dem Praktiker, dies sind die Kunstgriffe der „natürlichen Reinzucht.“ Ohne dieselbe ist, nach der Meinung Delbrück's, die „künstliche“ gar nichts.

Klöcker (Kopenhagen).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

Dr. Wilhelm Windisch.

Allgemeines über Bakterien und andere Mikroorganismen.

Atkinson, G. F., On the swarm spores of Pythium and Ceratiomyxa. [Abstract.] (Proceedings of the American Assn. Adv. Sci. Vol. XVIII. 1895. p. 290—291.)

Brefeld, O., Untersuchungen aus dem Gesamtgebiete der Mykologie. Entstehung der Schimmel- und Hefenpilze. Heft 12. Hemibasidii. Die Brandpilze. III. (Fortsetzung des 5. und 11. Heftes.) gr. 4⁰. Münster (H. Schöningh) 1895.

Dieudonné, A., Beiträge zur Nitritbildung der Bakterien. (Arb. a. d. kaiserl. Gesundh.-A. Bd. XI. 1895. p. 508—513.)

Etienne, G., Action de quelques microbes sur la substance glycogène. (Compt. rend. de la Soc. de biologie. 1894. p. 750—752.)

Marpmann, G., Bakteriochemische Probleme. (Deutsch-amerik. Apoth.-Ztg. 1895. No. 11 u. 12. p. 142—143, 155—156.)

Reuter, Enzio, Berättelse öfrer med understöd of Landtbruksstyrelsen sommaren 1894 värkstälda undersäkninger beträffende ängsmasken och andra skadeinsekter. (Landtbrukstyrelsens meddelanden. 1894. No. 7.) gr. 8⁰. 46 p. Helsingfors 1895.

Ruete, Ad. u. Enoch, Carl, Bakteriologische Luftuntersuchung in geschlossenen Schulräumen. (Münch. med. Wchschr. Bd. XLII. 1895. p. 492, 517.)

Schrank, Jos., Bakteriologische Untersuchungen fauler Kalkeier. (Ztschr. d. Oesterr. Apother-Vereins. Jahrg. XXXIII. 1895. p. 395—397.)

Smith, Theobald, Ueber die Bedeutung des Zuckers in Kulturmedien für Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. I. Abt. Bd. XVIII. 1895. No. 1. p. 1.)

v. Tavel, Ueber die Größenverhältnisse der Bakterien. (Berichte d. schweiz. bot. Gesellsch. 1895. Heft 5. p. 19—21.)

Trillet, A., L'aldehyde formique, consideré comme désinfectant, purificant et antiseptique. (Mémoire lu devant l'association des chimistes de sucrérie et de distillerie de la France. 1895.)

Winogradsky, S., Recherches sur l'assimilation du nitrogène libre de l'atmosphaere par les microbes. (Archive des sciences biolog. de St. Pétersbourg. Bd. III. 1895. p. 295.)

Systematik, Morphologie und Biologie der Bakterien und anderer Mikroorganismen.

Eisenschitz, S., Zur Morphologie der Sproßpilze. [Inaug.-Dissert.] Bern 1895.

Jörgensen, Alfred, Ueber den Ursprung der Alkoholhefen. (Bericht des gärungsphysiol. Laboratoriums Kopenhagen.) Verlag des Laboratoriums. 1895.

Lepierre, G., Recherche sur la fonction fluorescigène des microbes. (Annales de l'Institut Pasteur. Année IX. 1895. No. 8. p. 643.)

Allgemeine Gärungsphysiologie.

Dugast, J., La température des fermentations en Algérie. (Annales de la science agronomique française et étrangère. Sér. II. Année I. Tome I. 1895. p. 273—288.)

Smith, Th., Further observations on the fermentation tube with special reference to anaërobiosis, reduction and gas production. (Proceedings of the American. Assoc. for the advanc. of Science. 42. Meet. held at Madison, Wisc. 1893. Aug. p. 261.) Salem 1894.

Wischin, Rudolf, Ueber den Einfluß von schwefliger Säure auf Traubenmost. (Ztschr. f. Nahrungsmittel-Untersuchung, Hygiene und Warenkunde. Jahrg. IX. 1895. No. 16. p. 245.)

Brauerei.

Cerny, Franz, Die Hefengabe und ihr Einfluß auf die Gärung. (Oesterr. Brauer- u. Hopfenztg. Jahrg. VIII. 1895. No. 17. p. 225.)

Fischer, Paul, Hefereinzucht im Brauereigroßbetrieb mit spezieller Rücksicht auf die Anlage der Pabst Brewing Co. (Der Amerikanische Bierbrauer. Jahrg. XXVIII. 1895. No. 9. p. 477.)

Reichard, Albert u. Riehl, Albert, Zur Kenntnis und zur Bekämpfung der Sarcinakrankheit. V. (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. Jahrg. XVIII. 1895. No. 37. p. 301.)

Brennerei.

Cambier, Th., De l'aération des moûts en distillerie. (Journ. de la Distillerie française. Année XII. 1895. No. 581. p. 348. No. 582. p. 357.)

Dejonghe, Gaston, Aération des moûts en distillerie. (Journ. de la Distillerie française. Année XII. 1895. No. 586. p. 408. No. 587. p. 418.)

Prefshefefabrikation.

Stenglein, M., Maischversuche in einer Hefewürzefabrik. (Alkohol. Jahrg. V. 1895. No. 28. p. 436.)

Weinbereitung.

Gouirand, G., Sur la présence d'une diastase dans les vins cassés. (Moniteur industriel. 1895. No. 22.)

Müller-Thurgau, Ueber neuere Erfahrungen bei der Anwendung von Reinhefen in der Weinbereitung. Vortrag, gehalten auf dem 14. Deutschen Weinbau-Kongreß in Neustadt a. d. Haardt vom 24.—28. August 1895.

Nefsler, J., Ueber die Ursachen des Krankwerdens der Weine. Vortrag, gehalten auf dem 14. Deutschen Weinbau-Kongreß in Neustadt a. d. Haardt vom 24.—28. August 1895.

Zuckerfabrikation.

Wakker, J. H., De ziekte der kweekbedingen en het plotseling dood gaan van het riet in snytuinen veroorzaakt door Marasmius Sacchari n. sp. (Mededeelingen van het Proefstation „Oost-Java". N. S. No. 16. Overgedrukt uit het Archief vor de Java-Suikerindustrie. 1895. Afl. 13.) 8°. 15 p. Met figuren in den tekst. Soerabaia (H. van Jngen) 1895.

Molkerei.

Bustert, H. u. Herz, F. J., Rote Käse. (Mitteil. d. landwirtschaftl. Vereins im Algäu. Jahrg. VI. 1895.)

Foldberg, V., Ueber die Milchsäurebacillen oder den sogenannten Normal-Säure-Erreger. (Milchztg. Jahrg. XXIV. 1895. No. 36. p. 585.)

Nahrungs- und Genußmittel, Konserven etc.

Schroeder, E. C., Further experimental observations on the presence of tubercle bacilli in the milk of cows. (Veterin. Journ. 1895. April. p. 307—308.)

Stutzer, A., Das Sterilisieren der Milch. (Centralbl. f. allgem. Gesundheitspflege. 1895. Heft 3/4. p. 87—107.)

Töllner, Karl Fr., Ueber Milchkonservierungsmittel. (Milchztg. Jahrg. XXIV. 1895. No. 38. p. 618.)

Boden.

Nobbe, D., Untersuchungen und Versuche über Bodenimpfung mit den symbiotisch auf den Wurzeln der Leguminosen lebenden Bakterien. Vortrag, gehalten auf der

I. Sitzung der Abteilung für Agrikulturchemie und landwirtschaftliches Versuchswesen am 16. September 1895 gelegentlich der 67. Versammlung der Gesellschaft deutscher Naturforscher und Aerzte in Lübeck.

Düngung.

Versuchsstation in Bonn. Ueber die Ursachen der Stickstoffverluste in faulenden organischen Stoffen, insbesondere im Stallmist und in der Jauche. (Jahresbericht des landwirtschaftl. Centralvereins für Rheinpreußen. 1894.)

Durch Parasiten verursachte Krankheiten der Pflanzen.

Allescher, A., Zur Blattfleckkrankheit des Epheus. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. V. 1895. Heft 3. p. 142.)

Behrens, J., Phytopathologische Notizen. I. Botrytis Douglasii Tub. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. V. 1895. Heft 3. p. 136.)

Berlese, Antonio N., Insetticidi et insettifughi contro alcuni insetti e specialmente contro la Cochylis ambiguella, il Dacus oleae e la Carpo capsa pomonana. (Rivista di Patologia Vegetale. Vol. III. 1895. p. 221—244.)

— —, Le Cocciniglie italiane vivente sugli agrumi. (Loc. cit. p. 129—171.)

— —, Un nuovo marciume de insalata (Lactuca sativa). (Loc. cit. p. 339—343.)

— —, I parassiti vetegali delle piante coltivate utili. 8⁰. X u. 216 p. Con fig. Milano (edit. dott. Francesco Vallardi) 1895.

Berlese, Antonio N. e **Leonardi, G.**, Diagnosi di Cocciniglie nuove. (Rivista di Patologia Vegetale. Vol. III. 1895. p. 346.)

— —, Di una cocciniglia che attacca la vite (Mytilaspis Pomorum). (Loc. cit. p. 347.)

Cobb, N. A., Notes on diseases of plants. (Agl. Gaz. N. S. W. 1894. June. p. 390. with 1 fig.)

Decaux, Sur une invasion de chenilles (Simaethis nemorana Hübner) dévorant les feuilles et les fruits du figuier (dans le département des Alpes Maritimes). (Revue des sciences naturelles appliquées. 1895. No. 8.) 8⁰. pp. 7. Paris. (libr. Cerf & Co.) 1895.

Eriksson, J., Ueber die verschiedene Rostempfänglichkeit verschiedener Getreidesorten. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. V. 1895. Heft 3. p. 156.)

Gravis, A., Observations de pathologie végétale faites à l'Institut Botanique de l'Université de Liège. (Bulletin de la Société royale de botanique de Belgique. Tome XXXIV. Partie II. 1895. p. 9—26.)

Keſsler, H. F., Die Entwickelungs- und Lebensgeschichte der Gallwespe, Cynips calicis Brgsd., und der von derselben an den weiblichen Blüten von Quercus pedunculata Ehrh. hervorgerufenen Gallen, Knoppern genannt. (Sep.-Abdr. aus Jahresber. des Vereins für Naturkunde zu Kassel. 1895) 8⁰. 29 S. Mit 1 Tafel. Kassel (Theodor Kay) 1895.

Klebahn, H., Kulturversuche mit heteröcischen Rostpilzen. III. Bericht. 1894. [Schluß.] (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. V. 1895. Heft 3. p. 149.)

Klöppel, Der Getreiderost und seine Bekämpfung. (Der Landbote. Jahrg. XVI. 1895. No. 64. p. 563.)

Leonardi, Gustavo, Elenco dei Fitoptidi europei. (Rivista di Patologia vegetale. Vol. III. 1895. p. 302—338.)

Morris, D., Injury by sqirrels to redflowered chestnut trees. (The Gardener's Chronicle. Ser. III. Vol. XVII. 1895. S. 776.)

Rorig, G., Cecidomyia avenae Marchal, ein neuer Feind des Hafers. (Deutsche landwirtschaftl. Presse. Jahrg. XXII. 1895. No. 58. p. 531.)

Richter, W., Ueber die Beziehungen des Scheideschlammes zum Auftreten der Herzfäule der Rüben. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. V. 1895. Heft 1. p. 51.)

Sajo, Karl, Ueber Insektenfeinde von Pinus silvestris und P. austriaca. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. V. 1895. Heft 3. p. 129.)

Sasaki, C., The scale insect of mulberry trees. (College of Agr. Tokyo. Japan Bull. Vol. II. 1895. p. 413—454. With 6 fig.)

Schipper, W. W., Stapelplaatsen von boomen als oorzaak von besmettig met splintkevers. (Tijdschrift over Plantenziekten. 1895. p. 65—71.)

Schlechtendahl, D. v., Beobachtungen über das Bräunen der Blätter unserer Laubhölzer durch freilebende Phyltosoptinen [Gallmilben]. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. V. 1895. Heft I. p. 2.)

Schöyen, M. M, Beretning om Skade insekter og Plantesygdome i. 1893. Aarsberetning angaaende de offentlige Foranstaltninger til. (Land brugets Fremme i. Aret. 1893.)

— —, Petrolmischungen etc. gegen Raupen. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. V. 1895. Heft I. p. 7.)

Smith, E. F., Two new and destructive diseaces of Cucurbits. 1) The Muskmelon Alternaria; 2) A bacterial disease of Cucumbers, Chantaloupes and Squathes. Proceedings of the American Assoc. for the Advanee of Science XLII. Meet held at Madison Wisc. August 1893. Salem. 1894. p. 258.

— —, The Watermelon disease of the South [Abstract]. (Proceedings of the American Assn Adv. Sci. XVIII. 1895. p. 289—290.)

Smith, J. B., Some insects injurious to shade trees. (New Yersey Stas. Bull. No. 103. 1895. p. 15. With 4 figs.)

Smith, W. G. e Berlese, Antonio N., Ricerche morfo-anatomiche tulle deformazioni prodotte dalle Exoascacee nei germogli e nelle foglie [Traduzione]. (Rivista di Patologia Vegetale. Vol. III. 1895. p. 245—301.)

Solla, Rückschau über die auf phytopathologischem Gebiete während der Jahre 1893 u. 1894 in Italien entwickelten Thätiggeit [Fortsetzung]. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. V. 1895. p. 159—169.)

Sorauer, P., Ein Pilzbrand bei Ulmus Pitteursi. Mit Tafel. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. V. 1895. Heft III. p. 143.)

Stedmann, J. M., Cotton boll root. (Alabama Stas. Bull. No. 55. 1895. p. 12. pl. 1.)

Sturgis, W. C., Report of the Mycologist. (In Amerika aufgetretene Krankheitserscheinungen.] (The Connecticut Agricultural Experiment Stat. Report for 1893 p. 72—111.)

Treatment of common diseases and Insekts injouriuos to fruits and vegetables. (New York Agricultural Experiment Stat. Geneva. Bull. No. 86. Febr. 1895. p. 69. c. fig.)

Webber, H. J., I. The „white fly“ and „sooty mould“; II. Results in crossing navel oranges. (From the Proceedings of the seventh annual meeting of the Florida orticultural Society. 1894. 8°. 1 p.)

Wengy, Wahrscheinliche Ursache des frühen Absterbens der Grünveredlungen. (Die Weinlaube. Jahrg. XXVII. 1895. No. 21. p. 291.)

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Behrens, W., Ein neuer mikroskopischer Heiztisch mit Selbstregulierung für konstante Temperaturen. (Ztschr. f. wissenschaftl. Mikroskopie. Bd. XII. 1895. p. 1.)

Berlese, A., Metodo per essaminare sollecitamente terreni supposti inquinati da fillossera e raccogliere queste. (Rivista di Patologia vegetale. Vol. III. 1895. d. 343—345.)

Braus, H. u. Drüner, L., Ueber ein neues Präpariermikroskop. (Jenaische Ztschr. f. Naturwissensch. Bd. XXIX. 1895. p. 435.)

Delden, A. van, Ein Hilfsapparat zur Einstellung mit Immersionsobjektiven. (Ztschr. f. wissenschaftl. Mikroskopie. Bd. XII. 1895. p. 15.)

Kaiser, W., Ueber einen einfachen Apparat zur Elektrolyse unter dem Mikroskope auch bei geringem Fokalabstande der benutzten Objektive, welcher sich auch zu elektro-physiologischen Versuchen mit Infusorien und Bakterien eignet. Leipzig (G. Freitag) 1895. M. 0,40.

Nicolle, M, Pratique des colorations microbiennes (méthode de Gram modifiée, et méthode directe). (Annales de l'Institut Pasteur. Année IX. 1895. No. 8. p. 664.)

Pannwitz, Ein neuer bakteriendichter anatomischer Verschluß für Sterilisierungszwecke. (Pharmaz. Ztg. Jahrg. XL. 1895. p. 487.)

Radais, M., Ueber eine neue Methode zur Bereitung und Anwendung des Boraxkarmins. (Jour. Pharm. Chim. Sér. VI. No. 2. 1895. p. 149.)

Ryder, J. A., Automatical Microtom. (Americ. microscopical Journ. Jahrg. XVI. 1895. p. 216.)

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien.

Chassevant, A., Actions des sels métalliques sur la fermentation lactique. (Comptes rendus de la Société de biologie. 1895. No. 8. p. 140—142.)

Kukla, A., Die antiseptische Kraft des Antimicrococcins. (Oesterr. Brauer- u. Hopfen-Ztg. Jahrg. VIII. 1895. No. 14. p. 187.)

Lieven, A., Untersuchungen über das Tetrajodphenolphtaleïn (Nosophen) und sein Natronsalz (Antinosin). (Münch. med. Wchschr. Bd. XLII. 1895. No. 22. p. 510—513.)

Meyer, R., Ueber die bakterizide Wirkung des Argentum-Caseïns (Argonin) (Ztschr. f. Hyg. Bd. XX. Heft 1. p. 109—118.)

Rumm, Zur Kenntnis der Wirkung der Bordeauxbrühe und ihrer Bestandteile auf Spirogyra longata und die Uredosporen von Puccinia coronata. (Beiträge zur wissenschaftl. Botanik. 1895. Bd. I. Abt. I. p. 81. Mit 1 Tafel.)

Niederstedt, Die Abfallwässer Hamburgs. (Vortrag, gehalten auf der II. Sitzung der Abteilung für Hygiene und Medizinalpolizei am 17. September d. J. gelegentlich der 67. Versammlung der Gesellsch. deutsch. Naturforscher u. Aerzte in Lübeck 1895.)

Schirmunski, R. M., Zur Frage der antiseptischen Wirkung des Jodoforms [Russisch]. (Wratsch. Jahrg. XVI. 1895, p. 781.)

Seifert, B., Vergleich des Desinfektionswertes der gebräuchlichsten Desinfektionsmittel. (Apotheker-Ztg. Jahrg. X. 1895. p. 516.)

Woussen, L'emploi de la formaldéhyde en industrie. [Conférence faite au Congrès de l'Association des chimistes de la France.] (Journal de la Distillerie française. Année XII. No. 589. 1895. p. 441.)

Stewart, F. C., Effects of heat on the germination of curn and smut. (From the Proceedings of the Jowa Academy of Science. Vol. II. 1895. p. 74—78.) 8°. Jowa. 1895.

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie und Parasitenkunde.

Zweite Abteilung:

Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie und Pflanzenpathologie.

In Verbindung mit

Prof. Dr. **Adametz** in Krakau, Dr. W. M. **Beyerinck** in Delft, Prof. Dr. **A. B. Frank** in Berlin, Dr. v. **Freudenreich** in Bern, Prof. Dr. **Emil Chr. Hansen** in Kopenhagen, Dr. **Lindner** in Berlin, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Dr. **Erwin F. Smith** in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. **Stutzer** in Bonn, Privatdocent Dr. **Wehmer** in Hannover, Dr. **Weigmann** in Kiel, Dr. **Wilfarth** in Bernburg und Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg.

herausgegeben von

Dr. O. Uhlworm in Cassel.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

I. Band. **Jena**, den 15. Oktober 1895. **No. 20/21.**

Preis für den Band (26 Nummern) 16 Mark.

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde" richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige ***Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.***

Original-Mittheilungen.

Ueber einen auf Nährgelatine gedeihenden nitratbildenden Bacillus.

[Mitteilung aus der landwirtschaftlichen Versuchsstation in Bonn.]

Von

R. Burri und **A. Stutzer.**

Seit dem Erscheinen der allgemein bekannt gewordenen Arbeiten von S. Winogradky über die Frage der Organismen der Nitrifikation ist dieselbe wohl nirgendswo einer eingehenden Bearbeitung

unterworfen worden. Wenigstens war in der uns zugänglichen Litteratur, abgesehen von den größeren Arbeiten Warington's und Frankland's nichts aufzufinden, was über die Bedeutung einer gelegentlichen Notiz hinausgegangen wäre [1]). Dieser Umstand ist wohl dadurch erklärlich, daß die ganze, vielumstrittene Angelegenheit durch die Ergebnisse der Untersuchungen des genannten Forschers einen vorläufig befriedigenden Abschluß gefunden hatte. Außerdem zeichneten sich diese Arbeiten durch zielbewußte Fragestellung und streng logischen Aufbau derart aus, dass sich vielleicht gerade deswegen weniger das Bedürfnis zur Nachkontrolle bemerkbar machte, als man es bei der hohen wissenschaftlichen und praktischen Bedeutung des Gegenstandes hätte erwarten können.

Vorliegende Mitteilung umfaßt einen Teil der Ergebnisse von Arbeiten über Nitrifikation, mit welcher wir seit 2 Jahren beschäftigt sind, und welche lediglich eine Nachprüfung der zu allgemeiner Bedeutung gelangten Winogradsky'schen Untersuchungen zum Zweck hatten. Wenn wir hier die Arbeiten über einen nitratbildenden Organismus getrennt von der weiteren Frage über die Nitritbildung aus Ammoniakverbindungen vorausschicken, so geschieht es zum Teil deshalb, weil die Untersuchungen über die nitritbildenden Organismen noch nicht zum Abschluß gediehen sind, namentlich aber aus dem Grunde, weil die mannigfachen wesentlichen Differenzen zwischen den Winogradsky'schen und unseren Versuchsergebnissen eine möglichst beförderliche Veröffentlichung unserer Beobachtungen erwünscht erscheinen liessen.

Der Besprechung über die Mittel und Wege, welche uns zu Reinkulturen führten, schicken wir eine kurze Zusammenstellung der Erfahrungen voraus, welche wir bei Herstellung des Kieselsäurenährbodens gewonnen haben. Das in dem betreffenden Abschnitt Gesagte gilt selbstverständlich mit unwesentlichen Abweichungen auch für die Nährböden zur Isolierung nitritbildender Organismen und werden wir bei einer späteren Publikation darauf Bezug nehmen können.

A. Nährboden.

Winogradsky war es bekanntlich ebenso wenig wie vor ihm mehreren Anderen, die sich mit dieser Frage beschäftigt haben, gelungen, mittelst des Gelatineplattenverfahrens nitrifizierende Organismen in Reinkultur zu gewinnen. Er glaubte sogar die Eigentümlichkeit, auf organischen Nährböden nicht zu gedeihen, als gemeinsames Charakteristicum der nitrit- und nitratbildenden Bakterien hinstellen zu müssen. Nach seinem Vorgange haben wir deshalb unsere diesbezüglichen Versuche ausschließlich mit Hilfe des seinerzeit von Kühne [2]) vorgeschlagenen Kieselsäurenährbodens ausgeführt. Die dazu nötige Kieselsäure wird durch Versetzen von Wasserglas mit Salzsäure und nachherige Trennung der überschüssigen HCl und der gebildeten Chloride von der freien Kieselsäure durch Dialyse hergestellt. Für die Dialyse verwendet man mit Vorteil Schläuche aus vegetabilischem

1) Vergl. die betreffenden Referate in diesem Centralblatt Bd. I. p. 22. u. 80.
2) Vergl. die erwähnten Referate.

Pergament [1]), welche die Ausnutzung einer möglichst großen dialysierenden Fläche gestatten. Als wir nach Winogradsky's Angaben Wasserglas vom spez. Gewicht 1,06 und HCl vom spez. Gewicht 1,10 verwendeten, erstarrte das Gemisch regelmäßig schon in den Pergamentschläuchen. Wir schoben das Mißlingen anfänglich auf die Qualität des Pergamentpapiers, überzeugten uns aber später, daß das verwendete Wasserglas mit freiem Alkalihydrat verunreinigt war und so einen Teil der Säure abgestumpft hatte. Wiederholung der Versuche unter Verwendung eines reinen Präparates von Merck in Darmstadt führte zu befriedigenden Resultaten. Es kam zwar noch mitunter vor, daß die Säure vorzeitig gelatinisierte, und wählten wir daher in der Folge eine Wasserglaslösung vom spez. Gewicht 1,05, die mit dem gleichen Volumen einer HCl-Lösung vom spez. Gewicht 1,100 gemischt wurde. Das Gemisch wird sofort in 5 cm Durchmesser haltende Schläuche verteilt und dieselben in einem großen Glascylinder dem fließenden Leitungswasser ausgesetzt. Darin sollen die Schläuche höchstens 24 Stunden verweilen. Nach dieser Zeit sind nur noch Spuren freier Säure nachzuweisen. Sodann kommen die Schläuche in destilliertes Wasser, welches während des Tages 3mal erneuert wird. Nach 4 Tagen ist die Dialyse als beendet zu betrachten. Spuren von Chlorreaktion, die sich jetzt noch zeigen, haben keinen schädlichen Einfluß. Das Produkt ist im normalen Falle dünnflüssig wie Wasser und läßt sich so leicht wie dieses filtrieren. Die Opalescenz ist nur in geringem Maße vorhanden. Wir haben diese Kieselsäure immer im verdünnten Zustande, wie sie von den Schläuchen kam, aufbewahrt und erst im Bedarfsfalle ein gewisses Volumen davon konzentriert.

Das Einengen kann durch Kochen leicht auf $^1/_6$ bis $^1/_7$ des ursprüglichen Volumens getrieben werden. Man berechnet sich zuerst die Menge der verdünnten Säure, welche man für eine gewisse Anzahl von Platten bedarf. Für 10 Petri'sche Schälchen, wenn für jedes 10 ccm der konzentrierten Säure bestimmt sind, brauchen wir 600 ccm der verdünnten Säure. Diese Menge muß also auf 100 ccm eingedampft werden. Das Eindampfen geschieht durch Kochen auf freier Flamme und zwar wegen des oft starken Stoßens in einem großen Glaskolben. Porzellanschalen halten wir für diesen Zweck ungeeignet, weil sich an der Wandung fortwährend Krusten unlöslicher Kieselsäure abscheiden, die ihrerseits von neuem den Anstoß zu weiteren Ausscheidungen aus der Lösung geben. Diese unangenehmen Ausscheidungen fester Kieselsäure, lange bevor die Flüssigkeit den richtigen Konzentrationsgrad besizt, treten im Glaskolben fast gar nicht auf. Das Kochen in dem großen Kolben wird so lange fortgesetzt, bis sich das Volumen dem gewünschten nähert, im obigen Falle also auf vielleicht 150 bis 200 ccm. Jetzt gießt man den Inhalt in einen bereit gehaltenen, sterilisierten, kleinen Kochkolben an welchem man ringsum mit einem Oelstift eine Marke angebracht hat, welche das Volumen von 100 ccm mit genügender Genauigkeit anzeigt. Dieser

1) Durch Vermittelung von Franz Müller, Geißler's Nachf. vor einer Heilbronner Firma bezogen.

Kolben trägt wie der große einen Watte- oder Asbestverschluß. Ist die Marke erreicht, so läßt man erkalten und nun giebt man mittelst steriler Pipetten einerseits die Nährlösung, andererseits das Ammonsulfat oder das Nitrit und endlich das Karbonat zu. Die genannten Substanzen werden in den notwendigen Konzentrationen steril aufbewahrt. Die Nährsalzlösungen verwendeten wir in einer Stärke die die normale Zusammensetzung um das 10-fache übertraf, nämlich destilliertes Wasser 1000 g, Monokaliumphosphat 10 g, Magnesiumsulfat 5 g, Kochsalz 10 g, Chlorcalcium Spuren. Die Sodalösung war 10-proz., Ammonsulfat- und Nitritlösung 2-proz. Zu 100 ccm der konzentrierten Säurelösung wurden gegeben 10 ccm der Salzlösung und soviel der übrigen Komponenten, daß der Gehalt an Ammonsulfat, bezw. Natriumnitrit ca. 1 $^0/_{00}$ und an Soda 2—4 $^0/_{00}$ betrug. War das Gemisch im Kolben soweit fertiggestellt, so konnte dasselbe mit den Keimen versetzt und auf die Schälchen verteilt werden, oder aber wir verteilten das sterile Gemisch auf die Schälchen und stellten diese über Nacht in den Brutschrank. Am folgenden Morgen waren wir dann im Besitze der erstarrten Platten, die nun zu beliebiger Zeit oberflächlich geimpft werden konnten.

Eine der Hauptschwierigkeiten bei Verwendung des Kieselsäurenährbodens bestand früher darin, beim Eindampfen denjenigen Konzentrationsgrad zu erreichen, daß nach Zugabe der verschiedenen Salzlösungen, in verhältnismäßig kurzer Zeit eine feste Gallerte entstand. Dauert der flüssige Zustand des Gemisches noch mehrere Stunden nach der Impfung an, so ist leicht verständlich, daß während dieser Zeit in der quantitativen Zusammensetzung des durch die Impfung eingeführten Bakteriengemisches erhebliche Verschiebungen zu Ungunsten derjenigen Art, welche isoliert werden soll, stattfinden können. Andererseits ist es für die Qualität der resultierenden Kieselgallerte nicht von Vorteil, wenn der Uebergang vom flüssigen in den festen Zustand zu plötzlich erfolgt, da in diesem Falle eine nachträgliche Wasserabgabe sich auf den fertigen Platten sehr störend bemerkbar macht. Auch Winogradsky giebt an, daß es besser sei, wenn das Gemisch erst einige Stunden nach dem Ausgießen in die Schälchen gerinne, weil dann die Eigenschaften der Gallerte günstiger sich gestalten und zahlreichere Kolonieen an der Oberfläche erscheinen. Er setzt dabei voraus, daß das schwärmende Stadium des Nitritbildners als Impfmaterial verwendet wurde und daß die einzelnen Individuen während des flüssigen Zustandes des Nährbodens infolge ihres O-Bedürfnisses die Gelegenheit benutzen, um an die Oberfläche zu gelangen.

Nachdem wir heute im Besitze von Methoden sind, die es ermöglichen, auf beliebigem Substrat sämtliche aufgebrachten Keime oberflächlich und getrennt zur Entwickelung zu bringen, lag kein Grund vor, die Keime von Ammoniak, bezw. nitritoxydierenden Organismen zuerst mit dem flüssigen Nährboden zu mischen und dann durch Erstarrenlassen desselben zu fixieren. Gerade die fraglichen Arten mußten sich aus leicht einzusehenden Gründen einer derartigen Behandlungsweise gegenüber sehr dankbar zeigen und thatsächlich wurden unsere Erwartungen in dieser Beziehung, wie wir

weiter unten sehen werden, nicht getäuscht. Wir haben im späteren Verlaufe unserer Arbeiten über Nitrifikation ausschließlich Oberflächenplatten verwendet und zwar für Nitritbildner wie auch für Nitratbildner. Man hat dabei außer anderen hier nicht weiter zu nennenden Vorteilen auch denjenigen, daß das durch die herangewachsenen Kolonieen entwickelte Plattenbild der genaue Ausdruck für die bakterielle Zusammensetzung des Impfmaterials ist, sofern die auf Kieselsäurenährböden nicht gedeihenden Arten außer acht gelassen werden. Sodann ist man von dem Zeitpunkte des Erstarrens vollständig unabhängig, da man sich eine größere Zahl von Platten im Vorrat herstellen kann. Die Platten, die wir auf oben bezeichnete Weise gewonnen haben, sind meist am Nachmittage hergestellt und in flüssigem Zustande über Nacht im Brutschrank aufbewahrt worden. Am darauffolgenden Morgen waren sie für die Beschickung mit Keimen verwendbar. Die letztere wurde in einfacher Weise so vorgenommen, daß das Impfmaterial mit sterilem Wasser durch Schütteln gleichmäßig verdünnt und mittelst eines Zerstäubers in feinverteiltem Zustande auf die Gallerte gebracht wurde [1]). So gut auch die Platten in Bezug auf die lästige Wasserabgabe gelungen sein mögen, so empfiehlt es sich doch, dieselben immer mit dem Deckel nach unten und mit dem die Kulturschicht tragenden Boden nach oben in die feuchte Kammer zu legen. Nur so ist man vor störendem Kondensationswasser gesichert. In feuchten Kammern halten sich gute Platten monatelang, ohne ihre physikalischen Eigenschaften wesentlich zu ändern.

B. Isolierungsarbeiten.

Bevor wir auf unsere eigenen, den Gegenstand betreffenden Mitteilungen eintreten, fassen wir kurz die Befunde des russischen Forschers zusammen. Winogradsky nahm, ähnlich wie bei Aufsuchung des Nitritbildners, seine Zuflucht zum mineralischen festen Nährboden, als ihm eine Reihe von Reinzuchtversuchen mittelst gewöhnlicher Gelatine und Agar, dem Nährsalze zugesetzt wurden, mißlungen waren. Das Kieselsäureplattenverfahren führte aber anscheinend recht schnell zum Ziele, denn gleich bei der ersten Aussaat mit Material, das aus einer Erdprobe von Quito stammte, erhielt W. Kolonieen, welche auf nitrithaltige mineralische Nährlösung verimpft, wieder lebhafte Nitratbildung hervorriefen. Bei solchen Kulturen in mineralischen Nährlösungen waren in der Flüssigkeit meist gar keine Lebewesen zu entdecken; die letzteren bekleideten als gelatinöses dünnes Häutchen die Glaswand des Versuchsgefäßes. Der Organismus selbst war von außerordentlicher Kleinheit, nämlich $\frac{1}{2}$ μ lang und 3mal dünner, dabei unbeweglich und den Anilinfarben nicht leicht zugänglich. W. hat sodann Organismen mit der gleichen physiologischen Funktion in Erdproben aus Zürich und Java gefunden, die offenbar ungefähr dieselben morphologischen Verhältnisse gezeigt haben, denn von auffallenden Abweichungen ist in genannten Arbeiten des Verf. nichts angegeben. Wenn derselbe sagt, daß wahrscheinlich

---

1) R. Burri, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Jahrg. 1893.

jede Erde (Lage) nur eine zu derselben Gruppe gehörende Art beherbergt, so dürfte der Ausdruck Art wohl mehr im Sinne von Rasse aufzufassen sein.

Bei unseren Bemühungen, einen nitratbildenden Oganismus aufzufinden, hielten wir uns zunächst an die von Winogradsky gemachten Angaben. Darnach wählten wir als Ausgangsmaterial eine gut oxydierende flüssige Nitratbildnerkultur, in welcher der Nitritbildner nicht vorhanden war. Zu diesem Zwecke wurden Glasdosen von $5\frac{1}{2}$ cm Höhe und 9 cm Durchmesser mit übergreifendem Deckel mit 20 ccm der verdünnten Nährsalzlösung (siehe oben) beschickt und dazu soviel $MgCO_3$ gegeben, daß der Boden des Gefäßes in dünner Schicht damit bedeckt war. Das Ganze wurde im strömenden Dampf sterilisiert und nachher auf sterilem Wege die gewünschte Nitritmenge meist 1 ccm einer 2-proz. Lösung zugegeben und sodann die Impfung mit Erde vorgenommen. Sämtliche Kulturen standen beständig in einem auf 30° eingestellten Wärmeschranke und sind, wenn nachstehend von flüssigen Nitratbildnerkulturen die Rede ist, diese stets in gleicher Weise hergestellt. War das Nitrit verschwunden, so fügten wir wiederholt 20 mg Nitrit hinzu und benutzten nun diese „Originalkulturen“ um durch Verimpfung einer Platinöse voll von Flüssigkeit aus derselben „Tochterkulturen“ herzustellen, denen ebenfalls von Zeit zu Zeit Nitrit neu hinzugesetzt wurde, sobald die frühere Menge verschwunden war.

Eine vorläufige mikroskopische Untersuchung solcher Kulturen, die schon seit Wochen mit grosser Regelmäßigkeit arbeiteten, ließ in der Flüssigkeit und namentlich in der Karbonatschicht immer eine große Zahl kleinerer Stäbchen erkennen, die sich mit den gewöhnlichen wässerigen Anilinfarblösungen etwas blaß färbten. Daß der größte Teil der nitratbildenden Bakterien als fester, gelatinöser Belag die Gefäßwand bekleidet, konnten wir speziell in diesen Kulturen nicht bestätigen. Präparate mit Spuren von dem Wandbelag, der nach Ausspülen der Gefäße mit destiliertem, sterilem Wasser zurückblieb, ließen allerdings eine Menge kleiner Stäbchen erkennen, aber sehr viele fanden sich auch in jedem Tröpfchen der umgeschüttelten Kulturflüssigkeit. Daß die letztere ebenso viele nitratbildende Organismen enthielt als der Wandbelag, zeigt auch folgender doppelt ausgeführte Versuch. Eine gut oxydierende, flüssige Nitratbildnerkultur wurde durch Ueberspülen in ein reines, steriles Gefäß gebracht und die geleerte Schale mit sterilem Wasser nachgespült, ohne den Wandbelag abzukratzen oder irgendwie zu berühren. Sodann ist in die leere Schale von neuem die ursprüngliche sterile, nitrithaltige Nährlösung gebracht worden und gleichzeitig erhielt die in ein steriles Gefäß übergespülte Kultur die gleiche Menge Nitrit. Nun nahm die Oxydation in demjenigen Gefäß, welches die alte übergespülte Kultur enthielt, ihren regelmäßigen Fortgang, währenddem in dem ursprünglichen Gefäße, in welchem der zurückgebliebene Wandbelag gewissermaßen das Impfmaterial gebildet hatte, eine starke Verzögerung festzustellen war, ein Beweis, daß die Zahl der zurückgebliebenen Nitratbildner jedenfalls geringer war als die Zahl der mit der Nährlösung in dem neuen Gefäße vorhandenen. Uebrigens

spricht auch die Thatsache, daß man mit jedem Tröpfchen einer nitratbildenden Kultur erfolgreiche Verimpfungen auf frische sterile Nährlösungen ausführen kann, dafür, daß in unsern Kulturen eine genügende Zahl von oxydierenden Organismen frei in der Flüssigkeitsschicht vorhanden war.

Jene Kultur, die wir für Isolierungszwecke aus einer bestimmten Serie von nitratbildenden Tochterkulturen wählten, stammte von einer Erdprobe aus Northeim an der Leine, hatte in 20 ccm Flüssigkeit schon 10 mal 20 mg Natriumnitrit oxydiert und befand sich zur Zeit der Verimpfung auf die Kieselsäureplatten in lebhaftester Oxydationsarbeit. Die Platten waren in diesem Falle nicht reine Oberflächenplatten, sondern durch Vermischen des noch flüssigen Kieselsäure-Salzgemisches mit dem Impfmaterial und nachfolgendes Erstarrenlassen hergestellt. Schon nach 2 Tagen kamen an der Oberfläche der Gallerte zahlreiche unregelmäßig berandete, oft sternförmige Kolonieen zum Vorschein; zu dieser Zeit machten die Platten noch den Eindruck von Reinkulturen, welcher indes in den folgenden Tagen durch Hinzutreten zahlreicher Tiefen- und weiterer oberflächlicher Kolonieen gestört wurde. 11 Tage nach der Impfung war in der Gallerte kein Nitrit mehr nachzuweisen. Der Nitratbildner hatte sich also zweifelsohne auf den Platten befunden und war vielleicht sogar in den zuerst aufgetretenen großen Kolonieen zu suchen. Diese letzteren sollten nun einer näheren Prüfung unterzogen werden. Zu diesem Zwecke wurden mit einer der schönsten und bestisolierten Kolonieen Kieselsäure-Oberflächenplatten angelegt, mit je einer weiteren Kolonie ist mineralische Nährlösung von bekannter Zusammensetzung geimpft worden. Die Resultate dieser Impfungen führten zu einem überraschenden Widerspruch. Auf den Oberflächenplatten wuchsen nämlich in wenigen Tagen 1 — 1½ cm große Kolonieen heran, die aber nicht imstande waren Nitrit zu oxydieren; nicht nur zeigten die Platten während mehrerer Wochen immer gleiche Nitritreaktion, sondern flüssige Kulturen, die mit den großen Kolonieen den 24. Juni angelegt worden waren, hatten noch am 11. Oktober ihr Nitrit nicht verloren. Anders verhielten sich die vom gleichen Tage (11. Juni 1894) stammenden flüssigen Kulturen. Dieselben zeigten

den 18. Juni nach 7 Tagen maximale Nitritreaktion
„ 23. Juni „ 12 „ „ „
„ 30. Juni „ 19 „ keine „

Durch die Impfung war also entschieden ein nitratbildender Organismus auf das flüssige Substrat übertragen worden, wie überdies die jetzt maximal starke Diphenylaminreaktion bewies.

Das abweichende Verhalten der Kolonieen auf den Kieselsäure-Oberflächenplatten war offenbar darauf zurückzuführen, daß die für die Impfung verwendeten Kolonieen physiologisch verschieden, morphologisch aber ähnlich denjenigen Kolonieen waren, welche in mineralische Nährlösung übertragen wurden. Diese flüssigen Kulturen konnten vorläufig als Reinkulturen eines nitratbildenden Organismus gelten und zwar v o r l ä u f i g, weil der Beweis, daß durch die Impfung nur eine und dieselbe Art auf das sterile Substrat übertragen ist, noch nicht geliefert war. Es erfolgte zu dieser Zeit, äußerer Um-

stände halber, eine Unterbrechung der Versuche, und wurden die oben erwähnten Kieselsäureplatten beseitigt, die flüssigen Kulturen aber aufgehoben.

Bei der Wiederaufnahme der Arbeiten stellte sich heraus, daß von den 3 parallelen flüssigen Kulturen nur noch eine lebensfähig und die anderen durch Eintrocknen zu Grunde gegangen waren. Diese eine Kultur hatte nach 2 Zugaben von je 20 mg $NaNO_2$ in Bezug auf Oxydationsfähigkeit ihre frühere schnelle Gangart wieder erreicht und sollte nun den Ausgangspunkt zur Gewinnung einwandfreier Reinkulturen bilden. Voraussichtlich befanden wir uns dicht vor unserem Ziele, denn einerseits beherbergte die am Leben gebliebene Kultur mit Sicherheit einen Nitratbildner, andererseits konnte es sich bei den Verunreinigungen, weil diese Kultur seiner Zeit aus einer Plattenkolonie angelegt worden war, nur um eine oder vielleicht 2 nicht nitrifizierende, begleitende Arten handeln. Die Trennung der Arten wurde mittelst des Kieselsäurenährbodens in Angriff genommen, und zwar wurde das flüssige Gemisch vor dem Erstarren geimpft. Es dauerte ca. 24 Stunden vom Zeitpunkte der Impfung bis zum Festwerden des Nährbodens, doch schien dieser Umstand keinen ungünstigen Einfluß auf das Gedeihen der Kulturen ausgeübt zu haben. Es erschienen bald Kolonieen von entschieden nur einer Art, welche 5 Tage nach der Impfung bereits einen Durchmesser von 1 cm besaßen. Sie waren dünn und glasartig durchsichtig, so daß bei schwacher Vergrößerung das Mikroskop nur mit einiger Schwierigkeit auf den Rand der Kolonie einzustellen war. Ein zur Orientierung angefertigtes Präparat ließ sehr kleine, meist in Zweiteilung begriffene Stäbchen erkennen, die sich mit Karbolfuchsin gut färben ließen. Ueberimpfungen einer Spur von solchen Kolonieen riefen in gewöhnlicher Nährbouillon Trübung hervor. Von 3 mit dem fraglichen Organismus geimpften Bouillonkulturen wurden Uebertragungen auf mineralische nitrithaltige Nährlösungen ausgeführt, doch ohne Erfolg; noch nach 9 Wochen hatte sich kein Nitrat gebildet. Uebrigens hatten direkte Uebertragungen von den genannten glashellen Kolonieen auf flüssigen mineralischen Nährboden keinen besseren Erfolg und vor allem verschwand das Nitrit selbst nach vielen Wochen nicht aus den Kieselsäureplatten. Der kleine Bacillus, welcher die soeben erwähnten großen Kolonieen bildete, war demnach kein Nitratbildner, sondern mußte als Verunreinigung aufgefaßt werden. Diese Verunreinigung war um so störender, weil die Individuenzahl der betreffenden Art diejenige der gesuchten Art um ein Vielfaches zu übertreffen schien. Indessen war die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, daß während des lange dauernden flüssigen Zustandes des Nährbodens die nicht gewünschte Art sich so vermehren konnte, daß sie das Uebergewicht erreichte. Um diese Fehlerquelle auszuschließen, wurden nun Oberflächenplatten angelegt.

3 Tage nach der Impfung waren Plattenbilder entstanden, welche von den soeben beschriebenen nur wenig abwichen. Die Kolonieen waren hier ebenso groß, bestanden morphologisch aus denselben Elementen, zeigten aber nicht jene Durchsichtigkeit, sondern einen ausgeprägten bläulichgrauen Farbenton. Von den schönsten Kolonieen

wurden den 17. Dez. 1894 Abimpfungen auf nitrithaltige mineralische Nährlösungen gemacht, doch ohne Erfolg, noch am 14. März 1895 zeigte die Kultur maximale Reaktion mit Jodzinkstärke. Die verimpften Kolonieen waren entschieden keine Nitratbildner gewesen. Die Platten verloren übrigens im Laufe der Zeit das Aussehen von tadellosen Reinkulturen, das sie in den ersten Tagen boten, denn nach 12 Tagen waren deutlich zwei Wachstumstypen zu unterscheiden:

1) hautartig dünne Auflagerungen, bei oberflächlicher Betrachtung schwer sichtbar;
2) Kolonieen mit mehr oder weniger entwickeltem dichteren Centrum von graulichweißer Farbe.

Erneute Ueberimpfungen beider Arten von Kolonieen zeigten, daß die eine wie die andere unfähig war, Nitrit zu oxydieren. Später gewannen wir die Ueberzeugung, daß es sich bei diesen Kolonieen überhaupt nicht um eine innere Verschiedenheit gehandelt hat; die beiden Typen waren der Ausdruck für gewisse Differenzen in der physikalischen Beschaffenheit des Nährbodens (dickere oder dünnere Schicht). Die Platten waren anfänglich 14 Tage bei 30° C gestanden, später wurden sie in feuchten Kammern bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Die Kolonieen hatten sich im Laufe der Zeit noch vergrößert und waren meist ineinandergewachsen. Eine gelegentliche Prüfung der Kieselgallerte nach ca. 2 Monaten ergab zu unserer Ueberraschung Abwesenheit von Nitrit, hingegen starke Nitratreaktion: der Nitratbildner hatte sich also doch, aber jedenfalls in sehr untergeordneter Zahl, auf den Aussaatplatten gefunden. Aber nun war eine einwandfreie Abimpfung wegen der zahlreichen, die ganze Nährfläche überwuchernden Kolonieen vollständig unmöglich geworden, abgesehen davon, daß sich dem Auge mit Ausnahme der oben angedenteten überhaupt keine wesentlichen Unterschiede zwischen den einzelnen Kolonieen bemerkbar machten. Es stand nun Folgendes fest: Die gut oxydierende Kultur vom 11. Juni 1894 enthält neben dem gesuchten Nitratbildner noch mindestens eine begleitende, nicht nitrifizierende Art in solcher Individuenzahl, daß unter gewöhnlichen Verhältnissen das Kieselsäureplattenverfahren nicht genügt, um eine getrennte Entwicklung der Keime zu bewerkstelligen. Wurden die Platten in spärlicher Weise besäet, so erhielten wir Reinkulturen der verunreinigenden Art, wurde die Platte dichter besäet, so flossen die Kolonieen derart ineinander, daß eine Abimpfung von einer einzelnen Kolonie einfach unmöglich war.

Unter solchen Umständen bot das jetzt angewendete Verdünnungsverfahren zum vornherein wenig Aussicht auf Erfolg. Die betreffenden Versuchsresultate bestätigten lediglich die bereits gemachte Erfahrung; denn nur die Kulturen erster Ordnung nitrifizierten, die Verdünnungen höherer Ordnung enthielten wohl eine Menge von Stäbchen, die aber nicht Nitratbildner waren.

Von chemischen Hilfsmitteln, die uns vielleicht die gewünschte Trennung ermöglichen konnten, benutzten wir das Verhalten der nitratbildenden Organismen gegen kohlensaure Alkalien. Vorerst stellten wir fest, wieviel wasserfreie Soda einer

nitratbildenden Kultur zugesetzt werden kann, ohne daß der Oxydationsprozeß zu sehr beeinträchtigt wird.

Den Kulturen wurden anstatt $MgCO_3$ zugefügt:

0,25 Proz., 0,50 Proz., 0,75 Proz. u. 1 Proz. $NaCO_3$ (auf wasserfreies Salz berechnet). Jeder Versuch ist doppelt aufgeführt, die zugesetzte Menge Natriumnitrit betrug 0,1 Proz. Die Impfung erfolgte den 3. Jan. 1895 mit je einer Oese der flüssigen Kultur vom 11. Juni 1894.

+ bedeutet Nitritreaktion vorhanden, — bedeutet Nitrit verschwunden.

Datum	0,25 Proz.		0,50 Proz.		0,75 Proz.		1,00 Proz.	
	a	b	a	b	a	b	a	b
12. Jan.	+	+	+	+	+	+	+	+
16. Jan.	—	—	+	+	+	+	+	+
21. Jan.			—	+	+	+	+	+
26. Jan.				—	—	+	+	+
29. Jan.						—	+	+
2. Febr.							—	+
10. Febr.								—

Somit findet noch in sehr stark alkalischem Substrat Nitritoxydation, wenn auch verzögert, statt. Bevor die letzten Kulturen ihr Nitrit verloren hatten, war denjenigen mit niedrigem Sodagehalt wieder 1 $^0/_{00}$ $NaNO_2$ zugefügt worden und am 10. Febr. erhielten sämtliche Kulturen eine neue Zugabe von 2 $^0/_{00}$. Aber innerhalb 14 Tagen hatten nur die 4 ersten, also 0,25 und 0,50 Proz., die Oxydation vollendet, die übrigen blieben fortan unberücksichtigt.

Die Kultur a mit 0,5 Proz. $NaCO_2$ wurde nun zu Plattenaussaaten benutzt. Es kamen sowohl Platten nach Koch'schem Prinzip, als auch reine Oberflächenplatten zur Verwendung; nur die letzteren enthielten Kolonieen in für Isolierungszwecke günstiger Zahl. Diese Kolonieen waren schon nach 2 Tagen sichtbar, entwickelten sich als flache graue Auflagerungen und boten im ganzen das Bild jener Art, welche wir gerade durch Wachstum bei stark alkalischer Reaktion zu unterdrücken beabsichtigt hatten. Eine mikroskopische Untersuchung überzeugte uns aber, daß die Aehnlichkeit nur eine äußerliche war und diese neuen Kolonieen aus viel größeren Stäbchen zusammengesetzt waren als die früheren; zudem stellte sich nach ca. 8 Tagen eine rötliche Farbe ein, die wir früher nie auf Kieselsäure-Plattenkolonieen beobachten konnten. 14 Tage nach der Impfung gaben sämtliche Oberflächenplatten keine Nitritreaktion mehr, hingegen starke Nitratreaktion; auf sämtlichen mußte sich demnach ein Nitratbildender Organismus befinden. Die Frage, in welchen der vorhandenen Kolonieen dieser Nitratbildner zu suchen sei, war in diesem Falle leicht zu beantworten, denn auf 2 Platten (a und b) war überhaupt kein anderer Typus vertreten als jene flächenhaften rötlichen Anflagerungen, auf einer dritten Platte c fanden sich ganz

vereinzelt punktförmige schmutzigweise, aber auch flache Gebilde, die noch berücksichtigt werden mußten, aber ihres vereinzelten Vorkommens halber wenig Aussicht auf Erfolg boten.

Es wurden nun von beiden Arten der Kolonieen Ueberimpfungen auf nitrithaltige mineralische Nährlösung gemacht und zwar wurde

Kultur a geimpft mit flacher Kolonie aus Platte a
" b " " " " " " b
" c " " " " " " c
" d " " punktförmig. " " " c

Die zur Uebertragung verwendeten Kolonieen waren aus den bestisolierten ausgesucht. 8 Tage nach erfolgter Impfung war in Kultur a sämtliches Nitrit verschwunden, in den übrigen nicht. Am Morgen des 9. Tages gab Kultur b keine, Kultur c hingegen noch schwache Nitritreaktion. Am Abend desselben Tages war auch aus Kultur c sämtliches Nitrit verschwunden. Kultur d hingegen, welche mit einer punktförmigen Kolonie aus Platte c geimpft war, gab nicht nur zu dieser Zeit, sondern auch 6 Wochen später noch maximalstarke Reaktion mit Zinkjodstärke.

Wir waren somit im Besitze von Kolonieen, welche nach Uebertragung in nitrithaltige mineralische Nährböden eine lebhafte Oxydation des salpetrigsauren Salzes hervorzurufen imstande waren.

Diese Kolonieen waren zusammengesetzt aus 2—3 μ langen und ca. $^1/_2$ μ dicken Stäbchen, welche sich mit wässerigen Lösungen von Anilinfarbstoffen leicht färben ließen. Hatten wir in diesen Stäbchen einen nitratbildenden Organismus vor uns, so konnte kein Zweifel darüber bestehen, daß derselbe von dem von Winogradsky beschriebenen verschieden war und zwar so ziemlich in allen Punkten: in den Dimensionen, in der Farbstoffbildung, im Färbungsvermögen und vor allem in dem Verhalten auf organischen Nährböden. Bei Uebertragung einer Spur Materials, das einer jener oben beschriebenen flachen Kolonieen entnommen war, auf gewöhnliche schwach alkalische Nährbouillon stellte sich bei 30° C in 1—2 Tagen deutliche Trübung ein, unter Bildung eines kompakten Bodensatzes, der zuerst blaßrote, nach Wochen aber lebhaft ziegelrote Farbe besaß. Auch auf Gelatine wuchs diese Art unter langsamer Verflüssigung mit Entwicklung derselben roten Farbe. Dieses Verhalten stand in offenbarem Widerspruch mit den von Winogradsky gemachten Befunden, welcher für seine nitrit- und nitratbildenden Arten das Vermögen, auf organischen Nährböden zu gedeihen, als gemeinschaftliches Charakteristicum hinstellte. Zudem hat dieser Forscher aus mehreren aus verschiedensten Gegenden stammenden Erdproben immer nur ein und dieselbe Art abscheiden können, so daß wir doppelte Ursache hatten, unsere scheinbar neue Art ihrer physiologischen Wirksamkeit nach einer weiteren Prüfung zu unterziehen, um den Ansprüchen auf allfällige Neuheit eine sichere Grundlage geben zu können.

Als auf Kieselsäureplatten mit dem Material aus den fraglichen Kolonieen Strichkulturen angelegt wurden, gediehen diese sehr üppig und der rote Farbenton kam dabei besonders schön zur Geltung.

Daß auch nach Uebertragungen auf Bouillon und Gelatine lebhafte Vermehrung und Farbstoffbildung erfolgte, wurde oben schon bemerkt. Allerdings wurde Nitrit, welches der Bouillon in entsprechender Menge zugegeben war, nicht angegriffen, auch dann nicht, als die Flüssigkeitsschicht zum Zwecke besserer Sauerstoffzufuhr nur in einer Höhe von wenigen mm verwendet wurde. Diese Thatsache konnte indes kaum überraschen, da organische Nährböden, wie Bouillon und Gelatine, für das Zustandekommen von Oxydationsprozessen überhaupt ungünstig sind und weil andererseits der Bacillus es offenbar gar nicht notwendig hatte, sich durch Oxydation von Nitrit Energie zu verschaffen, da er die im Ueberflusse gebotene organische N-haltige Nahrung verwertete. Unerwartet war hingegen die Erscheinung, daß unser Bacillus nach einmaligem Passieren von organischem Nährboden und darauf erfolgter Ueberimpfung auf nitrithaltiges mineralisches Substrat auf demselben keine oxydierende Kraft mehr äußerte. Nach einigen gelegentlichen diesbezüglichen Beobachtungen wurden behufs genauerer Feststellung dieser Verhältnisse den 5. April 1895 6 Kulturen in mineralischen Nährlösungen angesetzt, und zwar stammte das Impfmaterial

1), 2) aus 14 Tage alter Bouillonkultur;

3), 4) aus 3 Tage alter Gelatinestrichkultur;

5), 6) aus Kieselsäurestrichkultur.

Die Resultate sind in folgendem verzeichnet:

+ bedeutet Nitritreaktion vorhanden, — bedeutet Nitritreaktion verschwunden.

Datum	1	2	3	4	5	6
12. April	+	+	+	+	+	+
16. April	+	+	+	+	+	—
24. April	+	+	+	+	—	
6. Mai	+	—	+	+		
20. Mai	+		+	+		

Es haben somit die zwei auf Kieselsäure fortgeführten Kulturen, wenn auch unter Verzögerung, ihr Nitrit zu Nitrat oxydiert, ebenfalls eine der von Material aus organischem Nährboden stammenden Kulturen, die übrigen 3 dagegen nicht. Bei No. 3 und 4 wäre eine lebhafte physiologisch-chemische Thätigkeit viel eher zu erwarten gewesen, als bei No. 2, welche als Augangspunkt eine alte Bouillonkultur hatte. Aber gerade deshalb, weil 3 und 4 noch junge, lebensfrische Kulturen waren und doch in mineralischer Lösung keine oxydierende Thätigkeit ausübten, kamen wir auf den Gedanken, daß sich unter der Maske der die roten Kolonieen bildenden Art noch eine zweite viel langsamer wachsende Art verberge und daß die erstere nur scheinbar der Träger eines spezifischen Oxydationsvermögens sei. Mit dieser Vermutung stand allerdings das Aus-

sehen der Platten, von welchen seiner Zeit die roten Kolonieen entnommen worden waren, im Widerspruche. Damals hatte je eine Kolonie aus je einer Kieselsäureplatte in flüssiger Nährlösung in 8, bezw. 9 Tagen sämtliches Nitrit oxydiert. Den flüssigen Kulturen war dann in der Folge noch zu wiederholten Malen die ursprüngliche Menge (0,1 Proz.) Nitrit zugegeben und somit voraussichtlich eine Vermehrung des oxydierenden Agens erzielt worden. Diese Kulturen waren nun geeignet, uns die endgiltige Antwort in Bezug auf den gesuchten Nitratbildner zu geben. War dieser wirklich identisch mit unseren roten Kolonieen, so durften bei einer Aussaat auf Kieselsäureplatten nur ausschließlich die roten Kolonieen entstehen. Schlossen aber die ursprünglich zur Impfung der flüssigen Kulturen verwendeten roten Kolonieen zwei verschiedene Bakterienarten in sich ein, so war zu erwarten, daß wenigstens vereinzelte Zellen der beiden Arten auf den Kieselsäureplatten getrennt zur Entwickelung kommen würden.

Die Platten wurden den 16. April 1895 in bekannter Weise als Oberflächenplatten hergestellt und besäet, und zwar

1) zwei Platten mit einem Tropfen aus Kultur b vom 22. März;
2) „ „ „ „ „ „ „ c „ 22. „

zudem

3) eine Platte mit Aufschwemmung einer jungen Gelatineplattenkolonie desselben rote Kolonieen bildenden Bacillus.

Schon 2—24 Stunden nach der Impfung waren auf sämtlichen Platten grauliche flache Kolonieen scheinbar nur einer Art zu sehen.

3 Tage nach der Impfung besaßen die Kolonieen der vier ersten Platten einen Durchmesser von 2—4 mm, die der fünften Platte waren wegen dichterer Besäung etwas kleiner ausgefallen. Der mikroskopische Befund stimmte bei sämtlichen Platten überein und deckte sich mit dem früher bei den roten Kolonieen gemeldeten. In dieser Zeit wurden aus sämtlichen Platten von je einer Kolonie Uebertragungen auf nitrithaltigen flüssigen Nährboden gemacht und dann von Zeit zu Zeit auf das Verschwinden von Nitrit geprüft. Die Prüfungen wurden fortgesetzt bis zum 25. Mai, also 1 Monat lang, doch immer mit negativem Erfolge. Unserer Ueberzeugung nach waren demnach die roten Kolonieen nicht aus nitratbildenden Bakterien zusammengesetzt. In obigem Falle hätte eine Oxydation des Nitrites wenigstens für die vier ersten Kulturen innerhalb der genannten Zeit eintreten müssen, denn nicht nur hatte das Impfmaterial niemals einen organischen Nährboden passiert, sondern es bestand aus jungen, in vollem Wachstume begriffenen Kolonieen, von denen jedes einzelne Stäbchen vermehrungs- und aktionsfähig war. Andererseits konnte der wahre Nitratbildner auf diesen Platten nicht ausbleiben, denn nach Analogie mit früheren Versuchen war vorauszusehen, daß die mit den Tropfen aus flüssigen Kulturen geimpften Platten ihr Nitrit nach 14 Tagen verlieren würden. Unsere Erwartungen wurden diesmal nicht getäuscht. 8 Tage nach der Impfung bemerkten wir zwischen den alten, jetzt deutlich rötlichen das Auftreten von sehr kleinen (ca. 0,1—0,2 mm Durchmesser besitzenden) Kolonieen, welche aus Stäbchen zusammen-

gesetzt waren, deren Länge $^3/_4$—$1^1/_2$ μ und deren Dicke $^1/_3$—$^1/_2$ μ betrug. Die Kolonieen waren glasartig durchscheinend, etwas bläulich, glänzend und von schleimiger, schwach fadenziehender Beschaffenheit. Dieser Typus war auf allen Platten vorhanden, die mit Material aus den vergorenen Kulturen geimpft worden waren, hingegen nicht auf der Platte, die von einer jungen auf Gelatine gezogenen Kolonie abstammte. Die rötlichen flachen Auflagerungen waren hier allerdings mit besonderer Ueppigkeit gediehen, doch zeigte die Kieselsäuregallerte noch 6 Wochen nach erfolgter Impfung maximalstarke Nitritreaktion, während bei den übrigen Platten die Nitritreaktion zum Teil schon 13 Tage, spätestens 16 Tage nach der Impfung nicht mehr eintrat. Näheren Aufschluß über die physiologische Bedeutung der langsam wachsenden, sehr kleinen Kolonieen sollte nun die folgende Versuchsreihe geben.

Sechs Glasdosen wurden in bekannter Weise mit nitrithaltiger mineralischer Nährlösung beschickt und geimpft mit Material aus:
a) großer Kolonie, c) kleiner Kolonie, e) großer + kleiner Kolonie,
b) „ „ d) „ „ f) „ + „ „

Folgendes sind die Ergebnisse der am 6. Mai erfolgten Impfung:

+ bedeutet Nitritreaktion vorhanden, — bedeutet Nitritreaktion verschwunden.

Datum	a	b	c	d	e	f
13. Mai	+	+	+	+	+	+
16. Mai	+	+	+	+	+	+
20. Mai	+	+	+	+	+	+
25. Mai	+	+	+	—	—	+
27. Mai	+	+	+	—	—	—
21. Juni	+	+	+	—	—	—

Durch diese Versuchsanordnung sollte gleichzeitig die Rolle festgestellt werden, welche jene die rötlichen Kolonieen bildende Art bei der Nitritoxydation spielt. Es war nämlich nicht ausgeschlossen, daß Salpeterbildung unter gleichzeitiger Thätigkeit beider Spaltpilze vor sich gehen könnte. Die Angaben der Tabelle bestätigen indes nur den früheren Befund, wonach die großen Kolonieen nicht aus Nitratbildnern bestehen; wohl aber beweist Kultur d, daß in den kleinen Kolonieen der gesuchte Nitratbildner vorliegt, während aus dem Verhalten von e und f zu entnehmen ist, daß die großen Kolonieen die physiologische Funktion der kleinen Kolonieen nicht gehindert haben. Daß bei c keine Oxydation eingetreten, liegt in der Kleinheit der Kolonieen und der zähschleimigen Natur derselben begründet. Es war nicht kontrollierbar, ob wirklich eine Uebertragung von Organismen durch die Platinnadel stattgefunden hatte.

Kultur d setzte uns also von neuem in die Lage, bei von einer Kolonie ausgehender Ueberimpfung in sterilisierter nitrithaltiger Nährlösung verhältnismäßig rasche Nitratbildung eintreten zu lassen.

C. Beschreibung des von uns isolierten Nitratbildners.

Im Anschlusse an das vereinzelt dastehende Versuchsergebnis, wonach eine gewisse Kolonie bei Verimpfung auf geeignete Nährlösung lebhafte Nitratbildung hervorrief, wurden noch eine Reihe von Uebertragungen von Kolonieen der gleichen Art mit demselben Erfolge ausgeführt. Nachdem so die physiologische Natur der betreffenden Kolonieen festgestellt war, schien auch ein näheres Eintreten auf die übrigen, die Art charakterisierenden Momente angezeigt.

1. Morphologisches Verhalten.

Untersuchungen über die Formverhältnisse haben wir zum Teil an Kieselsäureplattenkolonieen, zum Teil an Gelatineplattenkolonieen vorgenommen. Flüssige Kulturen eignen sich wenig für diesen Zweck, weil sie infolge der großen Oberfläche, die man anzuwenden genötigt ist, auf längere Dauer kaum rein zu erhalten sind.

Im hängenden Tropfen zeigen sich für beide Arten von Kolonieen $^3/_4$—$1^1/_2$ μ lange, ca. $^1/_2$ μ dicke Stäbchen mit homogenem Plasma, die zum Theil lebhafte Beweglichkeit zeigen. Neigung zur Bildung von Involutionsformen ist in den meisten Präparaten zu erkennen.

Wässerige Anilinfarben werden von den Bacillen nur schwer angenommen; sie färben sich damit blaß und ungleichmäßig, aber ohne Wechsel der äußeren Form. Die Umrisse sind zum Teil undeutlich, verschwommen.

Karbolfuchsin und wahrscheinlich alle mit Beizen kombinierten Farben verändern das mikroskopische Bild vollständig, indem sich die Dimensionen unter deren Einwirkung bedeutend verringern. Die Dicke beträgt nur noch $^1/_4$—$^1/_3$ μ. Es scheint eine Schrumpfung stattgefunden zu haben; wo vorher bei Behandlung mit wässerigem Fuchsin größere Massen von Stäbchen ein undeutliches, verwaschenes Bild lieferten, haben sich diese durch Nachbehandlung mit Karbolfuchsin in deutliche, gleichmäßig dunkelrot gefärbte Stäbchen aufgelöst, die regellos nebeneinander liegen und meist an einem oder an beiden Enden etwas verjüngt sind. Die Ursache dieser Verkleinerung ist in dem Vorhandensein einer Schleimhülle zu suchen, welche ursprünglich jedes Stäbchen umgiebt und welche bei Einwirkung gewisser chemischer Agentien gelöst wird oder vielleicht vollständig verquillt und so den nicht verschleimten plasmatischen Bakterienleib frei legt. Auf einen Verschleimungsprozeß hin deuten auch die oft kaum erkennbaren Konturen der nicht gefärbten Stäbchen, vor allem aber die Thatsache, daß junge Kolonieen namentlich auf Kieselsäureplatten mehr oder weniger fadenziehend sind.

2) Kulturelles Verhalten.

a) Auf mineralischen Nährböden. Die in Frage stehende Bakterienart gedeiht sehr gut bei Abwesenheit von organischer Substanz und wird jetzt von uns seit über 2 Jahren in mineralischen Nährböden anfänglich neben anderen Arten, später als Reinkultur

weitergezüchtet. Die organische Substanz, die von diesem Organismus gebildet wird, ist eine außerordentlich geringe und diese Thatsache macht sich bei allen Kulturen bemerkbar.

Flüssige Kulturen[1]) bleiben immer klar, trotzdem die Stäbchen mit Bewegungsfähigkeit ausgerüstet sind. Untersucht man ein Präparat im hängenden Tropfen, so trifft man viel seltener auf bewegliche Individuen, als man dies nach dem Verhalten der Art auf festen Nährböden erwarten sollte. Die Gesamtmenge der in einer gutoxydierenden Kultur enthaltenen Stäbchen ist überhaupt erstaunlich gering.

Feste Kulturen auf Kieselsäurenährboden sind charakterisiert durch ihre äußerst geringe körperliche Ausdehnung, durch eine schleimige bis fadenziehende Konsistenz und durch bläulichgraue, nie gelbliche Farbe, die übrigens den Kolonieen nicht eigentümlich ist, sondern vielmehr durch das immer mehr oder weniger bläulich opalescierende Substrat bedingt wird. Auf Platten sind die Kolonieen kreisrund begrenzt, wenig gewölbt und erreichen im allgemeinen einen Durchmesser von $^1/_2$—1 mm. Ueberimpft man solche Kolonieen in Form von Strichen auf neue nitrithaltige Kieselsäureplatten, so wiederholt sich das unter angegebenen Erscheinungen erfolgende Wachstum in etwas veränderter Form. Vor allem fällt auch hier die minimale Wachstums- und Vermehrungsfähigkeit in die Augen. Und trotzdem genügen wenige Kolonieen als kaum bemerkbare Auflagerungen in Strichform, um 0,1—0,2 Proz. $NaNO_2$ aus dem Kieselsäurenährboden nach 2—4 Wochen vollständig verschwinden zu lassen, bezw. in Nitrat überzuführen.

b) Auf organischen Nährböden. Auf denselben zeigt der Bacillus im allgemeinen recht ausgiebiges Wachstum, namentlich bei ungehindertem Zutritt der atmosphärischen Luft. Wir beschränkten die diesbezüglichen Versuche auf das Studium des Verhaltens in Bouillon und Gelatine, weil einerseits die physiologische Wirkungsweise der Art für sich allein charakteristischer ist als alle morphologischen und kulturellen Merkmale, anderseits, weil man bei Isolierungsversuchen aus weiter unten anzugebenden Gründen des rein mineralischen festen Nährbodens doch nicht wird entraten können.

In Nährbouillon tritt bei 30° C in 2—4 Tagen nach erfolgter Impfung schwache Trübung auf, welche während der folgenden Tage zunimmt, ohne je sehr intensiv zu werden. Später, nach ca. 14 Tagen, tritt wieder teilweise Klärung ein, während sich am Boden des Gläschens ein weißliches, nicht voluminöses Häufchen von Bakterienmasse mit schmutzigrötlicher Farbe ansammelt.

Auf Nährgelatine erweist sich der Bacillus als entschieden, wenn auch langsam verflüssigend. Die Verflüssigung tritt ca. 8 Tage nach der Impfung ein und ist die Ursache von zum Teil für diese Art eigentümlichen Kulturbildern.

Plattenkulturen. Die Kolonieen der Oberfläche werden bei 20° C als farblose, äußerst kleine kreisrunde Schleimtröpfchen sichtbar, die nach ca. 8 Tagen im Centrum einer Mulde von erweichter Gela-

1) Ueber die Zusammensetzung der Substrate siehe weiter oben.

tine liegen. Bei schwacher Vergrößerung lassen sich keine besonderen Struktureigentümlichkeiten erkennen. Nach 14 Tagen bis 3 Wochen sind dichter besetzte Platten vollständig dickflüssig geworden. Tiefenkolonieen sind am Anfang etwas schmutzig weiß, kugelrund und brechen nur langsam mit Hilfe ihres Verflüssigungsvermögens an die Oberfläche durch. Bei günstiger Verteilung erreichen die größten Kolonieen kaum mehr als 1 mm Durchmesser, während der verflüsslgte Bezirk $^1/_2$ cm erreichen kann.

Stichkulturen. In denselben kommt das ausgesprochene Sauerstoffbedürfnis des Bacillus besonders deutlich zum Ausdruck. Der unterste Teil des Stichkanals bleibt unsichtbar noch lange, nachdem in der oberen Partie schon lebhaftes Wachstum begonnen hat. Dasselbe beginnt um die Einstichöffnung mit einer farblosen oder bläulichen Auflagerung, die 2—3 mm Durchmesser erreichen kann und dann infolge der beginnenden Verflüssigung des Nährbodens einsinkt. 3 Wochen alte Kulturen zeigen folgendes Bild: Zu oberst luftblasenförmige Aushöhlung der Gelatine, daran schließt sich mit seiner Basis ein mit verflüssigter Gelatine gefüllter Kegel, dessen Spitze sich ungefähr in halber Höhe der Gelatineschicht befindet. Die letztere ist von Bakterienflocken getrübt, von denen sich ein Teil im spitzen unteren Teil des Kegels als rötliche Masse angesammelt hat. Die Spitze des Kegels läuft aus in den unteren fadenförmigen Teil des Stichkanals, der kaum sichtbare Bakterienentwickelung erkennen läßt.

Strichkulturen. Das Wachstum beginnt nach 2—3 Tagen im unteren Teil des Striches und bald darauf, meist mit örtlichen Unterbrechungen, auf der ganzen Länge desselben. Kurz vor Eintritt der Verflüssigung stellt sich die Kolonie als 1—2 mm breiter farbloser, bezw. bläulichweißer Streif von schleimigglänzendem Aussehen dar; nach Verlauf von ca. 8 Tagen setzt sich dieser Streif infolge von Erweichuug seiner Unterlage in Bewegung und rutscht nach und nach auf den Grund des Kulturgläschens, seine frühere Lage durch eine mäßig tiefe Rinne kennzeichnend. Wahrscheinlich infolge eines Verschleimungsprozesses, welchem die ganze Kolonie ihren innigen Zusammenhang verdankt, bleiben aber so wenig Bakterien in der Rinne zurück, daß im oberen Teil derselben der Verflüssigungsprozeß ins Stocken gerät, während in der unteren Partie wo nun die ganze Kolonie in engem Raume versammelt ist, nach und nach die Gelatine im ganzen Umkreis des Gläschens zerfließt. Auf diese Weise kommt nach ca. 3 Wochen ein Kulturbild zustande, das wir sonst nie bei den zahlreichen untersuchten verflüssigenden Bakterienarten beobachten konnten. Die oberen $^2/_3$ der schräg erstarrten Gelatine haften fest an der Wand des Reagensglases, die Masse ist aber unten in horizontaler Richtung abgeschnitten; an Stelle des unteren Drittels findet sich eine Schicht fast klarer flüssiger Gelatine, auf deren Grund eine rötlichweiße Bakterienmasse liegt.

3) Physiologisches Verhalten.

Der soeben beschriebene Bacillus besitzt in hohem Maße das Vermögen, mit Hilfe des atmosphärischen Sauerstoffs Nitrite zu Ni-

traten zu oxydieren. Dieses Vermögen scheint nicht in dem Sinne aufgefaßt werden zu dürfen, als ob die besprochene Art mehr als irgend eine andere durch Sauerstoffübertragung auf beliebige Körper oxydierend wirken könne, denn Ammoniaksalze z. B. werden durch unseren Bacillus nicht in Nitrate verwandelt. Die Oxydation der salpetrigsauren zu salpetersauren Salzen bildet wahrscheinlich nur eine Energiequelle, welche sich der Bacillus kraft eines ihm eigenen, mit dem lebenden Plasma eng verbundenen specifischen Fermentes bei Mangel an stickstoffhaltigen Verbindungen erschließen kann. Wenigstens ging aus zahlreichen Versuchen hervor, daß in peptonhaltigen Nährböden das zugesetzte Nitrit lange Zeit unverändert blieb und der Bacillus Albumine und Peptone ebenso gut zu verwerten wußte, wie hundert andere Arten. Im Gegenteil, das Wachstum war ein entschieden üppigeres auf den organischen Nährböden; die auf letzteren in Form von Bakterienplasma aufgebaute organische stickstoffhaltige Substanz überwog die auf den mineralischen Nährböden gebildete augenscheinlich um ein Vielfaches. Wenn also der Bacillus auf an organischer Substanz reichen Substraten allfällig vorhandenes Nitrit unangetastet läßt, so geschieht dies nur, weil er des Hilfsmittels, das ihm die Oxydation dieses Nitrites bieten würde, nicht bedarf.

Besonderes Interesse beanspruchen Kulturen, die von mineralischem Nährboden auf organischen, oder umgekehrt von organischem auf mineralischen übertragen wurden. Verimpften wir lebhaft oxydierende Kolonien unserer Nitratbildners von Kieselsäureplatten auf nitrithaltige Bouillon, so konnten wir, wie schon bemerkt, niemals Nitratbildung beobachten, noch geringer war die Aussicht, wenn das Impfmaterial selbst von organischem Nährboden stammte. Die Lebensweise auf organischem Nährboden ist von derjenigen auf rein mineralischem Substrat so grundverschieden, die im lebenden Bakterienplasma vor sich gehenden chemischen Umsetzungen sind sich in beiden Fällen so wenig verwandt, daß man von der Schnelligkeit überrascht ist, mit welcher die Anpassung an den organischen Nährboden sich vollzieht. Schon die erste Uebertragung von einer Kieselsäureplattenkolonie entnommenem Material auf Gelatine ruft hier kräftiges Gedeihen des Bacillus hervor, wenn auch nicht in dem Maße, wie bei den folgenden Weiterimpfungen auf organisches Substrat. Verfolgt man den umgekehrten Weg und überimpft man von einer Gelatine- oder Bouillonkultur eine Spur auf rein mineralischen Boden, so läßt sich eine Rückgewöhnung an das ursprüngliche Nährmedium nicht in dem Grade konstatieren, als sich nach oben Gesagtem vielleicht erwarten ließe. In den meisten Fällen, wo wir solche Uebertragungen vornahmen, sahen wir das zugesetzte Nitrit auch nach längeren Zeiträumen nicht verschwinden und nur zweimal ist es uns gelungen, in geeigneter mineralischer Nährlösung durch Impfung mit Material, das aus rein organischem Substrate stammte, Nitratbildung bis

zum völligen Verschwinden des zugesetzten Nitrits hervorzurufen. In dem einen Falle stammte das Impfmaterial aus einer Bouillonkultur, welche neben dem echten Nitratbildner noch die früher erwähnte, rote Kolonien bildende Art beherbergte, im anderen Falle diente eine Gelatinestrichkultur, die ihrerseits mit einer von der Kieselsäuregallerte entnommenen Nitratbildnerkolonie angelegt war, als Impfmaterial. Das ausnahmsweise Eintreten normaler Nitrifikation nach einmaliger Züchtung des Nitratbildners auf rein organischem Boden läßt sich vielleicht dadurch erklären, daß nach Uebertragung auf den letzteren nicht alle Stäbchen zur Teilung geschritten sind, sondern daß ein Teil derselben in den ungewohnten Verhältnissen latent geblieben ist und sich nach dem Rücktransport auf den organischen Boden in früherer Weise weiter entwickeln, bezw. Nitrit oxydieren konnte. Rückimpfung des Nitratbildners von organischem auf mineralischen Nährboden ist aber nicht nur mit dem Verlust der oxydierenden Fähigkeit, sondern vor allem auch mit einer für das bloße Auge sichtbaren Abschwächung verbunden. An Kieselsäureplatten ist diese Erscheinung am deutlichsten zu sehen. Sind auf diesem Boden die Kolonieen an und für sich klein und wenig in die Augen fallend, so treten sie noch mehr zurück nach einmaliger Züchtung auf Gelatine oder Bouillon.

Das Verhältnis der organischen Substanz zur Nitratproduktion im Erdboden ist theoretisch und praktisch wichtig genug, um als Mittelpunkt besonderer Untersuchungen zu dienen und möchten wir uns die Bearbeitung diesbezüglicher Fragen an Hand unserer Nitratbildnerreinkulturen vorbehalten.

Die oxydierende Kraft des von uns beschriebenen Nitratbildners ist eine sehr hohe. Zur Zeit, als die vermeintlichen Reinkulturen immer 2 Organismen, den Nitratbildner und eine nicht oxydierende begleitende Art enthielten, wurde eine Versuchsreihe durchgeführt in der Art, daß das verschwundene Nitrit immer wieder durch neues ersetzt wurde. Auf diese Weise wurden in 20 ccm der Nährlösung vom 22. März bis 6. Mai 300 mg. Nitrit in Nitrat übergeführt, ohne das die Kulturen eine Abschwächung zeigten. Gegen das Ende des genannten Zeitraumes betrug die Menge des in 24 Stunden in 20 ccm Nährlösung oxydierten $NaNO_2$ 30 mg. Später, als wir im Besitze wirklicher Reinkulturen waren, steigerte sich die Leistungsfähigkeit derselben noch mehr, denn nach wenigen successiven Nitritzugaben konnten wir in der gleichen Quantität der Nährlösung eine Oxydation von 40 mg $NaNO_2$ pro Tag beobachten, es wurden demnach in einem Liter der Nährlösung in 24 Stunden 2 g $NaNO_2$ in $NaNO_3$ übergeführt.

Es drängt sich nun die Frage auf, in welcher Beziehung der von uns isolierte Organismus zu dem von Winogradsky beschriebenen Nitratbildner steht. Zu besseren Vergleiche stellen wir hier die für beide Organismen charakteristischen Merkmale nebeneinander zusammen.

Winogradsky's Nitratbildner aus Quito.	Eigener Nitratbildner aus Northeim.
Stäbchen von höchstens $^{1}/_{2}$ μ Länge und 1,5 μ bis 3mal geringerer Dicke im gefärbten Zustande. (Alk. Methylenblau.)	Stäbchen $^{3}/_{4}$—$1^{1}/_{2}$ μ Länge und ca. $^{1}/_{2}$ μ Dicke im lebenden, von $^{1}/_{2}$—1 μ Länge und $^{1}/_{4}$—$^{1}/_{3}$ μ Dicke im gefärbten Zustande. (Karbolfuchsin.)
Bewegung nicht konstatiert.	Bewegung in Plattenkolonien auf Kieselgallerte und Gelatine konstatiert.
Wachstum bleibt auf organischen Nährböden aus.	Wachstum findet auf organischen Nährböden statt, auf Gelatine unter langsamer Verflüssigung derselben.
Kieselsäureplattenkolonieen haben graulichgelbe Farbe und sind in der Tiefe des Nährbodens meist linsenförmig.	Kieselsäureplattenkolonien sind an der Oberfläche farblos, bezw. bläulich. Tiefenkolonien nur in Gelatine untersucht, wo sie nicht linsenförmig.
Ammoniaksalze werden nicht in salpetrigsaure Salze übergeführt.	Ammoniaksalze werden nicht in salpetrigsaure Salze übergeführt.
Beobachtete maximale Leistung: Oxydation von 10 mg Nitritstickstoff per Tag (wahrscheinlich in 20 ccm Nährlösung).	Beobachtete maximale Leistung: Oxydation von 9,3 mg Nitritstickstoff per Tag in 20 ccm Nährlösung.

Die bei oberflächlicher Vergleichung recht bedeutend erscheinenden Differenzen verlieren, unter gewissen Gesichtspunkten betrachtet, größtenteils den Charakter von wesentlichen Gegensätzen. Wie wir gezeigt haben, können durch den Färbungsprozeß tiefgreifende Veränderungen der morphologischen Verhältnisse vor sich gehen. Wenn also Winogradsky $^{1}/_{2}$ μ als Maximal- und wir die gleiche Größe als Minimallänge angeben, so kann das noch keinen Grund zur Trennung der beiden beschriebenen Formen bilden. Was die Bewegung anbetrifft, so haben wir solche in flüssigen Kulturen auch nie zweifellos feststellen können, wohl aber in Reinkulturen auf festem Substrate. Ein Unterscheidungsmerkmal von prinzipieller Bedeutung bildet allerdings das Verhalten auf rein organischen Nährböden. Soviel aus den Arbeiten des russischen Gelehrten hervorgeht, hat derselbe es aber nicht versucht, von Kieselsäureplattenkolonieen ausgehend Uebertragungen auf Gelatine oder Bouillon zu machen, sondern aus der Thatsache, daß sich mit Hilfe der gewöhnlichen Nährgelatine bezw. Agar kein nitratbildender Organismus isolieren läßt, geschlossen, daß derselbe auf den genannten Nährmedien überhaupt nicht zur Entwickelung gelangt. Das weiter oben gekennzeichnete Verhalten des Organismus auf organischen Nährböden in Bezug auf Nitritoxydation läßt allerdings diesen Schluß verständlich erscheinen. Wenn wir uns demnach auf Grund des Gesagten nicht ohne weiteres entschließen können, den von uns beschriebenen Organismus als wesentlich verschieden von dem Winogradsky'schen zu erklären, so bestimmt uns die Uebereinstimmung in der physiologisch-chemischen Thätigkeit der beiden Formen geradezu zu der Annahme einer Identität derselben innerhalb gewisser durch örtliche und klimatische Verhältnisse gesteckter Grenzen. Weitere Untersuchungen mit Nitratbildern verschiedener Standorte sollen dazu dienen, die Berechtigung dieser Annahme zu prüfen.

21. August 1895.

A biological study of pasteurized milk and cream under commercial conditions.

By

Dr. N. L. Russell,

University of Wisconsin, Madison, Wis. U. S. A.

With 2 figures.

Within the last decade or so a number of machines have been devised for the purpose of pasteurizing milk and cream for direct consumption. The great majority of these have been constructed entirely from the standpoint of the practical dairyman and in only a few instances have they been subjected to experiments in order to determine the efficiency of their product from a biological standpoint. As a natural consequence of this lack of supervision, many kinds of apparatus fail to a large extent to deliver a product that can be guaranteed as disease free or one in which vegetating bacteria are destroyed.

In most instances, this failure to destroy the growing bacteria is due to the inability to hold the milk for a given length of time at a given temperature. In the endeavor to secure a machine having a large daily capacity, the fundamental fact above referred to is lost sight of, and as a consequence the whole volume of milk is not heated to a sufficient temperature for a sufficient length of time.

Then again, it often occurs when the temperature and time are not under direct control, to find that the milk is overheated and in this way a cooked taste is produced.

The temperature at which milk acquires a cooked taste is not a definite and distinct point but varies somewhat with the treatment given the fluid. Duclaux has given 70° C as the temperature at which this appears but in our experience in a number of instances, different persons have been able independantly to detect a scalded taste in cold pasteurized milk at a somewhat lower point. It is a peculiar fact that pasteurized milk may give a marked cooked taste immediately after it is heated but when chilled this often disappears entirely.

The conditions, that must be fulfilled in pasteurizing milk are twofold, viz., 1) biological, 2) physical.

The temperature and time of exposure chosen for this purpose that will enable a fulfillment of the above conditions is subject to considerable variation. The minimum limit must exceed the thermal death point of the vegetating bacteria and owing to the high resistance and also increasing prevalence of the tubercle germ, prudence dictates the choice of the thermal death point of this organism as a standard.

The maximum limit of exposure is fixed by the physical condition that temperature at which the milk acquires a permanently cooked flavor.

It is useless to attempt to pasteurize milk with success unless

the heated material is cooled rapidly to a temperature unfavorable for the germination and development of the spores that are unaffected by the heating process. This fact is more graphically represented

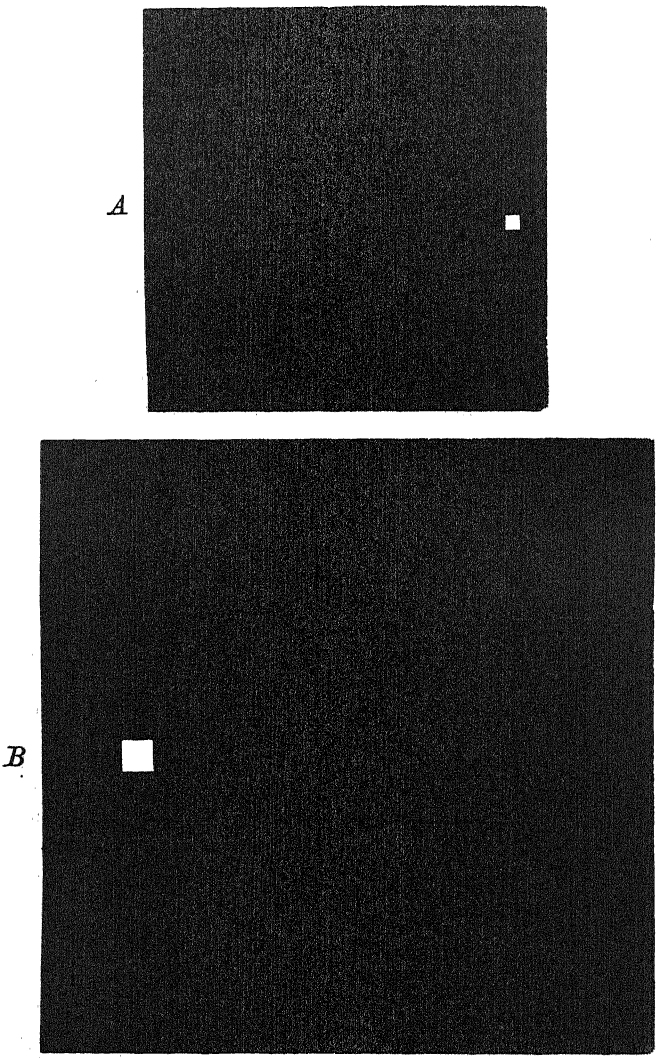


Fig. 1. The square *A* shows number of bacteria in normal milk, the small white square, the number of germs in pasteurized milk; the square *B* shows the same relation with raw and pasteurized cream.

in the following diagram and from this it is easy to see that where the milk is allowed to cool naturally or even where cold water is used, the temperature of the milk is maintained at a point favorable for the development of microorganisms.

Description of Apparatus.

The following brief sketch is given of the apparatus that we have constructed for this purpose, and which has been in constant use on a commercial scale as the University Creamery of the Wisconsin Dairy School for the past year.

The apparatus designed for pasteurizing and cooling the milk is composed of three pieces, viz.; A) a pasteurizer or heater, B) a water cooler and C) an ice cooler.

A. Pasteurizer. The pasteurizer has an inner tin reservoir for the milk that is surrrounded by a water jacket on all sides, except the top. Heat is applied to this body of water by means of steam that is in introduced through a perforated steam pipe in the bottom of the water vat and by radiation the milk is heated in the inner vat. To rapidly equalize the temperature of the water and milk, a series of agitators must be used. These are suspended on movable rods and hang vertically in the respective milk and water chambers. The agitators in the milk chamber are of solid construction below, but open work above, so as to create as much of an up and down current as possible, and thus keep the cream thoroughly distributed throughout the mass. The agitating machinery of both water and milk chambers is connected to a movable gearing that may be operated either by a hand crank or automatic belt power.

This stirring machinery is geared to an eccentric that permits of a horizontal movement of only a few inches (about eight). By means of this device, the heat is diffused rapidly throughout the whole mass and as the temperature of the milk reaches the proper point, the steam supply is shut off and the heat of the whole body of water and milk will remain constant for the proper length of time.

One of the most difficult problems that we have had to contend with in such a simple contrivance as this was that of drawing off the pasteurized milk from the vat without any danger of infecting it. An ordinary stop cock placed on the outside cannot be used, for it is impractical to heat the milk that fills the cavity of the outlet tube to the stopcock at this projects beyond the water chamber. To overcome this difficulty we have constructed a valve that is placed inside of the water chamber and is operated by means of a long lever that reaches to the top of apparatus. This stop cock has a circular instead of a rectangular orifice so that when the valve is open the inner bore of the outlet tube presents an uniformly smooth surface. This is essential so that the tube may be thoroughly cleaned its whole length by the aid of a swab or brush.

The heated milk is drawn from the vat as soon as the pasteurizing process is completed so that a second lot may be immediately treated in the same manner. In drawing off the milk, it is run through a cooler in order to lower its temperature to a point unfavorable for the germination of spores. To cool most economically, water is employed for the first part of the process but even cold running warer is unsufficient to lower the milk to a safe temperature

A number of these are filled with the requisite quantity of alkali and then as the patrons arrive at the creamery, a sample of the milk is taken by the acid of the milk sampler and mixed with the alkali. In this way, the condition of the milk as to its acid is quickly determined. The percentage of acid taken as a standard is of course arbitrary but the above percentage has been selected after a lengthy examination of the milk from different patrons.

Farrington's alkaline tablets, a mixture of a certain quantity of alkali with an indicator, are the most convenient from of keeping the chemicals for practical use. These are put up in dry form but are easily soluble in water. Objections will doubtless be urged against this method, as it is possible where milk is impregnated with alkali-producing bacteria to have a low percentage of acidity while the germ content is extremely high. This is certainly true, but these cases are the exception rather than the rule, as the lactic acid fermentation predominates over any other type of fermentative activity.

A comparative study of fresh milks as they are received at the creamery that have a percentage of acidity above and below this standard is now being made in order to determine if the spore content of the same rises and falls with the total number of bacteria and the acid present in the sample. The results obtained so far justify the conclusion in general that milk containing a low degree of acidity usually has a smaller number of spore-bearing germs than that which contains a high percentage of acid. The following data are here given as illustrative of this point.

Table showing relation of bacteria in milks, having more and less than 0,2 % of acidity.

Date	No. of bacteria present in mixed milk			
	Containing less than 0,2 % lactic acid		Containing more than 0,2 % lactic acid	
	Unpasteurized	Pasteurized	Unpasteurized	Pasteurized
May 16	192 000	5 300	1 795 000	8 500
May 17	2 080 000	2 400	2 000 000	15 000
May 21	161 000	6 100	788 000	7 850
May 22	729 000	13 500	3 000 000	3 000
May 23	155 000	6 000	1 225 000	11 000
May 24	1 798 000	3 300	2 130 000	2 500
May 29	2 178 000	4 500		7 000

From this table it is seen that in all but two cases the milk containing the less amount of acid had less spores.

In all of the above cases, cultures of the unpasteurized and pasteurized milks were made from the same identical sample after it had been diluted in sterile water. After the first culture was made, the tubes were heated to 68° C. for twenty minutes and cultures immediately made from the same. In this way a greater uniformity of samples is secured.

Quantitative determination of Bacteria in pasteurized and unpasteurized products.

The quantitative study of pasteurized products has extended over the space of nearly a year. During this interim both the raw and the heated milk has been subjected to a wide range in temperature that has inevitably considerable variation in numbers but in the following résumé an abstract of all comparative analyses are included.

In table A the results are tabulated in a way so as to show the average condition of samples as accurately as possible. The same data are also presented in another way in table B.

Table A. Number of bacteria per cc. in milk and cream.

	Unpasteurized	No. cases	%	Pasteurized	cases	%
Full cream milk 50 samples	Less than 1 000 000 germs per cc.	7	28	Less than 1000 germs per cc.	10	40
	From 1 000 000—5 000 000	11	44	From 1000—5000	9	36
	From 5 000 000—10 000 000	6	24	From 5000—10 000	2	8
	Over 10 000 000	1	4	Over 10 000	4	16
Cream 25 % 58 samples	Less than 1 000 000 per cc.	2	7	Less than 1000 pr. cc.	3	10
	1 000 000—5 000 000 ,, ,,	10	34	1000—5000 ,, ,,	6	20
	5 000 000—10 000 000 ,, ,,	9	31	5000—10 000 ,, ,,	5	17
	Over 10 000 000	8	28	Over 10 000 ,, ,,	15	52

Table B. Number of bacteria per cc. in milk and cream.

	Unpasteurized			Pasteurized		
	Minimum	Maximum	Average	Minimum	Maximum	Average
Full cream milk	25 300	15 827 000	3 674 000	0	37 500	6140
Cream 25 %	425 000	32 800 000	8 700 000	0	57 000	24 250

The reduction in germ life in the milk and cream by pasteurization is brought out forcibly by the above data. In all cases where an examination was made, samples were taken of the unpasteurized material immediately before the pasteurizing process and duplicate cultures prepared.

If the average of the different sets of cultures in the above table are taken as representative of the effect that the pasteurizing process has upon bacterial life it will be seen that the diminution is a very marked one.

	No. of bacteria per cc. in		Reduction in per cent
	Unpasteurized	Pasteurized	
Cream (25 %)	8 700 000	24 250	99,722
Milk	3 674 000	6 140	99,832

Figure 2 shows this in a graphic manner. In the black square marked A, the average number of organisms present in a single cubic centimeter of the unpasteurized milk are represented. The

tiny white square enclosed in his black area indicates the average number found in an equal quantity of the pasteurized product.

The square B indicates a similar relation existing between the bacterial germs present in raw and pasteurized cream (25%).

In these instances the small fraction of a percent shown in the pasteurized product denotes the relative number of organisms that are in a spore-bearing or latent stage and therefore not affected by the heat used in the pasteurizing process.

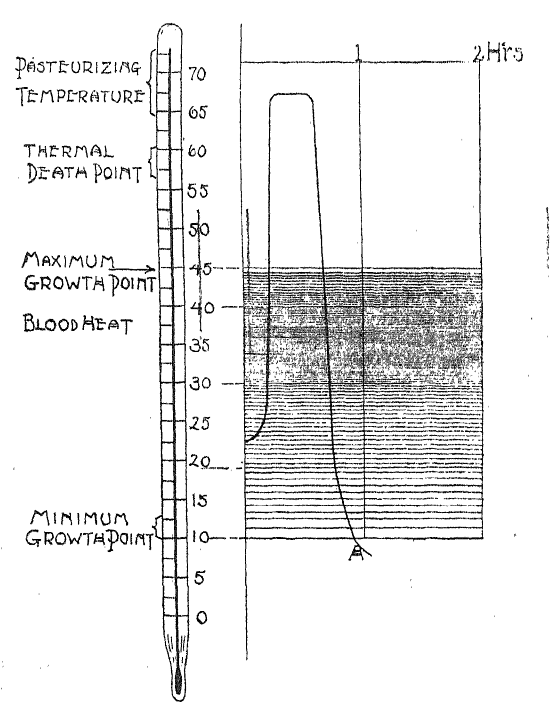


Fig. 2. Showing relative diminution of bacteria in pasteurized milk and cream compared with the raw material.
Both are drawn on the same scale.

This relation between the number of organisms present in pasteurized and untreated material is not always maintained in these proportions but is subject to a certain amount of variation.

In only exceptional instances (not more than one or two of the entire set of analyses) did the reduction in numbers due to pasteurizing fall below 90%, showing that the aboslute percentage of spores compared with growing vegetating forms is very small.

Influence of age on the keeping quality of pasteurized milk.

The age of milk has an undoubted influence upon the amount of living organisms that are contained in this fluid. Other conditions

being equal, such as temperature etc. the amount of germ life per cubic centimeter in two samples of same kind are in a way proportional to the age of the same. The older the milk is the richer it is in bacteria and also usually in spores. Therefore the older milk is harder to successfully pasteurize. This face we first observed by noting that the milk and cream pasteurized on Monday falled to keep as long as that prepared on other days of the week. This was found to be due to the fact that the milk used for pasteurizing on that day was considerably older than that used on any other day.

An opportunity was offered to study the effect of age on the pasteurizing quality of the regular milk supply at the University creamery. During the summer season and up to January 1st, it was the custom to deliver the milk early in the forenoon that was milked in the morning and on the night before. This milk was separated and the amount used for pasteurizing handled during the forenoon. The milk or cream when pasteurized was therefore only six, or at most eighteen hours old. During the season of the Dairy School, from January to April, it was impossible to receive a sufficient quantity of the milk early enough in the morning so it was delivered in the afternoon and was not separated and pasteurized until the next morning. This milk was therefore 30—42 hours old before it was pasteurized and studied.

An examination of the analyses made of pasteurized milk and cream before and after January 1st reveal a marked difference in the amount of bacterial life present in the material. During the fall from November to January when the milk was delivered and handled on the same day, the average number of germs per ccm in fifteen samples was about 1 300 000. During the winter months between January and March the milk showed an average content of over 7 000 000 per ccm and in no case was there less than 2 500 000 organisms per ccm in anv sample.

The result is shown in even a more striking manner in the analyses made of the cream. In seven samples of cream (25%) taken in November-December the average content was 1 092 000 germs per ccm, while the average of fiften tests made in January when the material was older showed over 9 500 000 organisms per unit of volume.

During the lapse of time from November to March, there was of course a marked difference in temperature but as the lower averages are in both cases associated with the late fall milk when the temperature would favor a more rapid growth of bacteria in milk and cream, the change in temperature cannot be urged to explain this variation.

With the pasteurized material a marked difference was also to be noted.

In fifteen samples of pasteurized milk examined from November to Dezember nine of them revealed no organisms or so few that they might almost be regarded as sterile. In those samples examined after January the lowest number found was 100 germsper ccm, while the average was nearly 5000. With the pasteurized

cream a similar condition was to be observed. In seven samples taken in the late fall, cultures made from two of them remained sterile although two others had a large number (about 50000) present. Of the fifteen samples taken during the winter months, in only one instance did the number fall below a 1000 per ccm while the average was considerably over 20000 per unit of volume. Data of this sort show that the age of the milk and the bacterial development dependant upon this age accounts for the shorter keeping qualities of the milk secured under the more unfavorable winter conditions. This increased growth produces naturally many spores and therefore milk of this sort pasteurized with the same care can not be expected to keep as well as that which is handled in a fresher condition where there are less bacteria in the spore or resistant form.

Qualitative study of Bacteria in pasteurized milk and cream.

In the foregoing part, considerable attention has been given to the numerical decrease in bacteria that is occasioned by the pasteurizing process but under the above head, the character of the different species, especially in their relation to milk will be discussed. The importance of this phase of the question is considerable, inasmuch, as the different changes induced in milk are dependant more upon the species than the number of bacteria present.

In this series of investigations which have covered the major part of a year, it has been possible to study the flora of pasteurized milk under the varying conditions of different seasons.

In all, fifteen different species have been isolated from pasteurized milk and cream. This number does not include isolated sporadic colonies that appeared now and then on the culture plates and which may have been derived originally from the air but only those species that were sufficiently numerous to indicate beyond any question that they were derived from the milk. Of the above fifteen species, only six of these were what might be called predominating forms. Morphologically, of these six species that were found three were bacilli, the remainder belonging to the coccus type. Of the fifteen species in all that were present in pasteurized milk and cream, seven were bacilli and eight cocci. Two of the bacilli were unable to liquefy gelatin; the remaining five belonged to the liquefying class. The cocci were equally divided in numbers as to their ability to peptonize gelatin, there being four species in each class.

The effect of the different forms on milk is quite striking and well worth noting. Out of the total fifteen species, seven of them, (four cocci and three bacilli) were unable apparantly to cause any change in litmus milk. Three of the remaining eight species produced a solid firm coagulum that precipitated the casein as in the lactic acid fermentation. The balance belonged to that class able to form rennet and tryptic or digesting enzymes. In most instances, both of the different enzymes were present in the same species but in two instances the milk was curdled to a soft jelly but no subsequent digestion or solution of the casein occurred. With reference to the

six forms that predominated in the majority of the cultures, three of them had no effect on milk while the other three were coagulated by a rennet enzyme and digested by a tryptic ferment.

From the above data it will be noted, —

1) that to a large extent the lactic acid bacteria are destroyed by the pasteurizing process; particularly is this noticeable among those forms commonly found in pasteurized milk. As a rule bacteria belonging to this class do not have spores and therefore they are easily annihilated by the pasteurizing process.

2) Another striking fact that is to be noted is the presence of a relatively large number of species whose action on milk seems to be an indifferent one. Half of the ordinary common forms isolated in milk and seven out of the fifteen species seem to be able have no effect on the physical character of the culture medium.

3) Besides those forms indifferent to milk, the bulk of the remainder of the bacterial flora as to variety of species is made up of the rennet forming bacteria that also possess the power of digesting or peptonizing the casein.

Referate.

Fischer, Emil, Ueber den Einfluß der Konfiguration auf die Wirkung der Enzyme. II u. III. (Ber. der deutsch. chem. Ges. Bd. XXVII. 1894. H. 19 u. Bd. XXVIII. 1895. H. 11[1]).

E. F. hat im Gegensatz zu allen früheren Angaben gefunden, daß der wässerige Auszug der Bierhefe nicht nur den Rohrzucker, sondern auch die Maltose spaltet, und daß dagegen das käufliche Invertin, welches durch Fällung mit Alkohol erhalten wird, keinen Einfluß auf Maltose ausübt.

Bei der weiteren Forschung hat E. F. nachgewiesen, daß die Hefe, außer dem Invertin, noch ein diastatisches Enzym enthält.

Er hat mit dem Wasser aus der frischen Hefe das Maltose spaltende Ferment (die Maltase) nicht entziehen können, wohl aber das Invertin. Nach dem Zerreiben der Hefe mit Glaspulver hat schon der wässerige Auszug eine schwache Wirkung geäußert, stark aber ist die Wirkung nur dann gewesen, wenn man unverletzte Hefe selbst, im frischen Zustande, angewendet hat.

Die Lösung der beiden Enzyme wird am besten auf folgende Weise gewonnen: „Die getrocknete und fein zerriebene Hefe wird mit der 20-fachen Menge Wasser 20 Stunden bei 30—35° digeriert und die Flüssigkeit filtriert." Bei wiederholter Fällung einer solchen Lösung mit Alkohol erhält man reines Invertin. Die Maltase wurde bis jetzt, ihrer leichten Veränderlichkeit wegen, getrennt vom Invertin nicht erhalten.

---

1) Ueber die erste von diesen äufserst interessanten Abhandlungen wurde bereits im „Ctrbl." berichtet.

Auf eine ähnliche Weise hat E. F. bewiesen, daß die Milchzuckerhefe (wie auch die Kefirkörner) ein milchzuckerspaltendes Enzym, eine „Lactase“ und außerdem ein rohrzuckerspaltendes Enzym enthält.

Auf diese und die anderen Beobachtungen gestützt, spricht sich E. F. dafür aus, daß bei der Vergärung der Polysaccharide eine vorherige Spaltung in Hexosen, innerhalb der Hefezellen selbst, stattfindet.

Wie bekannt, bewirken manche Enzyme einen Zerfall der Glukosidemoleküle. E. F. hat die neulich von ihm erhaltenen Glukoside in dieser Beziehung geprüft und herausgestellt, daß die Hefemaltase das Methylmannosid und das Methylsorbosid unverändert läßt, dagegen spaltet sie das Methylfructosid leicht. Das letztere wird vom Invertin nicht angegriffen.

Aus den angeführten und noch früher von E. F. beschriebenen Beispielen geht hervor, daß die Wirkung der Hefeenzyme und des Emulsins auf die Glukoside von der Konfiguration des Moleküls abhängig ist. So z: B. das β-Methylgalaktosid wird vom Emulsin leicht gespalten, indem das α-Methylgalaktosid gar nicht angegriffen wird. Da auch der Milchzucker leicht mit Emulsin zerfällt, so hält ihn E. F. für einen Galaktosid der β-Reihe.

In Bezug auf die Enzyme der Hefe zeigen Maltose und α-Methylglukosid dasselbe Verhalten, die Maltase des Blutes spaltet aber Maltose wohl, während sie das α-Methylglukosid nicht verändert.

Das Emulsin übt seine Wirkung wie auf die Derivate des Traubenzuckers, so auch auf diejenigen der Galaktose.

Die Methylderivate der Glukoheptose, Rhamnose, Arabinose und Xylose wurden von Emulsin nicht angegriffen. Diese Thatsache ist schon deshalb bemerkenswert, weil das d-Glukosid dieselbe Konfiguration wie das Xylosid besitzt und hat nur einen asymmetrischen Kohlenstoffatom mehr, der letztere muß demnach hier eine Rolle spielen.

Die Struktur des Moleküls übt ebenso wie seine Konfiguration einen starken Einfluß auf die Enzymwirkung aus. Bei den Polysacchariden kommt diese Wirkung, wegen der bedeutenden Größe des Moleküls noch schärfer zum Vorschein. In diesem Falle können die Enzyme sogar als Reagentien zur Unterscheidung der einzelnen Polysaccharide dienen.

Die folgenden Disaccharide werden nur von den nebengeschriebenen Enzymen gespalten.

Rohrzucker—Invertin,
Maltose—Maltase,
Milchzucker—Lactase oder Emulsin,
Trehalose—Diastase oder frische Hefe.

E. F. hält es für sehr wahrscheinlich, daß alle Enzyme, die in gewisser chemischer Wirkung übereinstimmen, eine sehr ähnliche Atomgruppe enthalten. Es ist wohl bekannt, daß die spaltende Wirkung mancher Enzyme viel weiter geht, als die von den anderen. Man kann es auf die Weise erklären, daß entweder gewisse Enzyme keine chemischen Individua, sondern Gemische von verschiedenen Enzymen

sind oder daß es solche Enzyme giebt, deren Molekül verschiedene Atomgruppen von der verschiedenen enzymatischen Wirkung besitzt.

Die angeführten und die anderen möglichen Erklärungen stützen sich vorläufig auf keine direkten experimentellen Beweise. Sie stellen nach E. F. nur Möglichkeiten und Vermutungen dar.

A. Wróblewski (Krakau).

Moller, Franz J., Verfahren zur Bereitung von Hefe unter Anwendung des elektrischen Stromes. (Zeitschr. f. Spiritusindustrie. XVIII. Jahrg. p. 185).

Die bis jetzt im Brennereibetriebe übliche Einleitung der Milchsäuregärung will Verf. durch ein ihm patentiertes Verfahren umgehen, welches auf der hohen Widerstandsfähigkeit der Hefezellen gegen starke elektrische Ströme beruht. Sämtliche Spaltpilze unterliegen nämlich schneller der Einwirkung des elektrischen Stromes als die verschiedenen Hefepilze. Unmittelbar nach dem Verzuckerungsprozeß wird durch die Gesamtmaische während der Abkühlung ein Strom von ca. 5 Ampères geleitet, auch die Vorstellmaische wird je nach Umständen mit einem elektrischen Strome von 3—7 Ampères behandelt, auf diese Weise also elektrisch gereinigte Maische mit elektrisch gereinigter Hefe in Gärung versetzt. Dieses Verfahren soll folgende Vorteile im Gefolge haben:

1) Der Prozeß wird um die ganze Zeit abgekürzt, welche die Säuerung in Anspruch nimmt.

2) Es treten keine Verluste an gärfähigem Material auf, welche sonst durch die Nebengärungen hervorgerufen wurden, und es wird dadurch eine Mehrausbeute von mindestens 5 Proz. erzielt.

3) Die Gärung verläuft vollständig normal; Schaumgärung tritt nicht ein.

4) An der Anode entwickelt sich Sauerstoff, welche die ganze Maische durchdringt und die Durchlüftungsarbeit unnötig macht.

Sollten sich die genannten Vorzüge auch nicht in ihrem vollen Umfange bestätigen, so dürfte immerhin das Prinzip einer Desinfektion auf elektrischem Wege seitens der Brennereipraxis einige Beachtung verdienen. Unverständlich ist die Behauptung des Verfassers, man könne unter Anwendung des elektrischen Stromes diejenige Hefeart rein züchten, welche die größte Ausbeute liefert. Solches wäre doch nur denkbar, wenn diese Hefe als Träger der gewünschten guten Eigenschaften gleichzeitig eine höhere Widerstandskraft gegen den elektrischen Strom besäße, als sämtliche anderen bei der Isolierung in Betracht fallenden Arten bezw. Rassen. Burri (Bonn).

Marchal, Émile, The production of ammonia in the soil by microbes. (Agricult. Science. Vol. VIII. 1894. p. 574.)

Bei der Umwandlung der stickstoffhaltigen organischen Körper in Nitrate durch niedere Organismen lassen sich 3 Phasen unterscheiden: 1) die Bildung von Ammoniak aus der organischen Substanz; 2) die Oxydation des Ammoniaks zu Nitrit und 3) die weitere Oxydation des Nitrites zu Nitrat. Verf. hat sich eine nähere Unter-

suchung der ersten Phase dieses komplizierten Mineralisierungsprozesses zur Aufgabe gestellt und läßt die durch Hydratation des Harnstoffes, sowie die durch Reduktion der Nitrite bedingte Ammoniakbildung ausdrücklich unberücksichtigt. Vorerst weist Verf. experimentell nach, daß im Boden ohne die Mitwirkung von Mikroben überhaupt aus stickstoffhaltiger organischer Substanz kein Ammoniak gebildet wird. Sodann züchtet er die häufigsten, im Boden vorkommenden Bakterien, Hefen und Schimmelpilze und prüft die erhaltenen Reinkulturen auf ihr Vermögen, Ammoniak zu bilden.

Als allerhäufigste Bakterienarten zählt Verf. auf: B. mycoides Flügge, B. fluorescens liquefaciens Flügge, B. fluorescens putidus Flügge, B. janthinus Zopf, B. mesentericus vulgatus Flügge, B. mesentericus ruber Globig, B. termo Dujardin, Proteus vulgaris Hauser, eine Sarcina ähnlich S. lutea Schröter, Micrococcus roseus, M. flavus, M. candicans Flügge und M. luteus Schröter.

Als häufigste Schimmelpilze werden genannt: Penicillium glaucum, P. cladosporioides, Mucor mucedo, M. racemosus, Botrytis cinerea, B. vulgaris und ei. a. Im Anschluß werden Vertreter der durch Torula, Monilia u. s. w. gebildeten Organismengruppe erwähnt.

Als stickstoffhaltiges Prüfungsmittel für die einzelnen Arten wählte Verf. Hühnereiweiß, weil die Albuminoide unter den stickstoffhaltigen Substanzen des Bodens vorherrschend sind; überdies war anzunehmen, daß diejenigen Arten, welche Albumine zu Ammoniak oxydieren, auch im stande sind, die anderen stickstoffhaltigen Substanzen des Bodens, wie Amide, Amidosäuren u. s. w. zu oxydieren, weil letztere meist Uebergangsprodukte des Mineralisierungsprozesses sind. Das Eiweiß, das in sehr verdünntem Zustande Verwendung fand, war durch Gegenwart von Ferrosulfat unkoagulierbar gemacht und konnte daher bei 100° C sterilisiert werden. Die einzelnen Portionen der Lösung waren in Pasteur'schen Kölbchen sterilisiert, die Versuchstemperatur betrug 30° C und die Versuchsdauer 15 Tage. Nach Verlauf dieser Zeit wurde sowohl mit Nessler's Reagens, als auch durch Erhitzen mit Magnesia und Untersuchung der entweichenden Gase mit Lakmuspapier geprüft. 17 von 31 auf diese Weise untersuchten Bakterienarten ließen intensive Ammoniakproduktion nachweisen. Die meisten übrigen Arten gaben sehr deutliche, aber viel geringere Reaktion, durch einige wurden nur Spuren von Ammoniak gebildet. Die Bildung von Ammoniak aus eiweißartigen Körpern ist also nicht ein spezifisches Vermögen gewisser Organismen, wie die Nitrit- und Nitratbildung, sondern eine einer großen Zahl von Mikroorganismen gemeinschaftliche Funktion. Auch die meisten pathogenen Bakterien können nach des Verf. Untersuchungen aus Eiweiß erhebliche Mengen von Ammoniak bilden.

An die qualitativen Untersuchungen schließt sich eine Reihe quantitativer Prüfungen, wobei nur die am energischsten wirkenden Arten berücksichtigt werden. Die Kulturen befanden sich in den Kölbchen eines Schlösing'schen Destillationsapparates und ent-

hielten eine geringe Menge Magnesia. Der Stickstoffgehalt der Nährlösung vor der Impfung war nach Kjeldahl bestimmt. Jedes Kölbchen enthielt 25 ccm der Eiweißlösung, welche Menge 1,365 gr organischem Stickstoff per Liter Flüssigkeit entsprach. In folgender Tabelle sind die nach 20tägiger Versuchsdauer erhaltenen Resultate wiedergegeben.

Bakterienart	Ammoniak N. in 25 ccm mg	Ammoniak N. per Liter g	Prozente des in NH_3 umgewandelten organischen N.
Bacillus arborescens	6,7	0,268	19
„ figurans	8,0	0,320	23
„ fluorescens putidus	7.5	0,300	22
„ fluorescens liquefaciens	5,6	0,224	16
„ mesentericus vulgatus	10,1	0,404	29
„ mycoides	16,0	0,640	46
„ subtilis	8,1	0,324	23
„ termo	6,3	0,252	19
„ janthinus	7,9	0,316	23
„ species No. 1	13,5	0,540	39
„ „ „ 2	7,7	0,308	22
„ „ „ 3	9,0	0,360	25
„ „ „ 4	5,5	0,220	16
Proteus vulgaris	12,1	0,484	36
Sarcina lutea	9,5	0,380	27

B. mycoides Flügge hat demnach mit der Ueberführung von 46 Proz. des vorhandenen organischen Stickstoffs in Ammoniakstickstoff weitaus die energischste Wirkung geäußert.

Anschließend an die bemerkenswerten Resultate führt Verf. die Ergebnisse ähnlicher Versuche mit einer Reihe von Schimmelpilzen und 2 Saccharomyceten an. Daß die namentlich durch erstere bewirkte Ammoniakbildung hinter der durch Bakterien vollzogenen nicht zurücksteht, beweisen folgende Zahlen:

Pilzart	Ammoniak N. in 50 ccm mg	Ammoniak N. per Liter g
Aspergillus terricola	21,6	0,432
Botryotrichum piluliferum	16,2	0,324
Cephalothecium roseum	25,1	0,502
Stemphylium sp.	3,6	0,072
Streptothrix Foersteri	14,1	0,282

Die Versuchstemperatur betrug in diesem Falle 18° C und die Versuchsdauer nur 5 Tage.

Es ist nun die Frage, ob Schimmelpilze oder Bakterien als die eigentlichen Ammoniakerzeuger im Boden zu betrachten sind. Diesbezügliche Untersuchungen zeigen, daß in intensiv bebauten Böden die Schimmelpilze entschieden zurücktreten, einerseits wegen der alkalischen Reaktion, welche den Bakterien günstiger ist, anderer-

seits wegen Mangel von größeren Mengen organischer Substanz. Verf. fand aber Mycelien von Schimmelpilzen massenhaft in sauren, an organischer Substanz reichen Böden, so im Walde und auch auf gewissen bebauten Böden. Hier spielen die Schimmelpilze zweifelsohne bei der Mineralisierung des organischen Stickstoffs eine lebhafte Rolle.

Dem oben erwähnten B. mycoides Fl. widmet Verf. eine eingehende Beschreibung in morphologischer und kultureller Beziehung; sodann wird noch eine Reihe von Versuchen mitgeteilt, die sich auf die ammoniakbildende Thätigkeit des Bacillus beziehen und deren wichtigste Ergebnisse in Folgendem zusammengestellt sind.

Physiologisches.

Die hervorragendste Eigenschaft des Bacillus ist die Umwandlung des organisch gebundenen Stickstoffs in Ammoniakstickstoff. Acht aus verschiedenen Fundorten stammende Kulturen zeigten bei gleicher Behandlung verschiedene Energie. Die gefundenen Werte für das gebildete Ammoniak per Liter Nährlösung bewegten sich zwischen 0,284 und 0,792 gr.

Chemismus des Phaenomens.

In Berücksichtigung einer Reihe von Thatsachen, die hier nicht im Einzelnen wiedergegeben werden können, gelangt Verf. zu folgender Hypothese: Unter der Einwirkung des B. mycoides wirkt Sauerstoff in der Weise auf Eiweis ein, daß der Kohlenstoff desselben zu Kohlensäure, der Schwefel zu Schwefelsäure, und ein Teil des Wasserstoffs zu Wasser oxidiert wird, während Ammoniak als Rückstand bleibt. In gewissem Sinne kann die Ammoniakbildung aus Eiweiß als das Resultat eines eigentümlichen Athmungsprozesses aufgefaßt werden, ähnlich wie die Bildung von elementarem Schwefel aus Schwefslwasserstoff durch die von Winogradsky beschriebenen Schwefelbakterien.

Einfluß der Temperatur.

Das Optimum für die Ammoniakbildang befand sich bei 30° C. Zwischen 0 und 5° C wurden nur Spuren von Ammoniak gebildet; bei 40° C fand keine Entwicklung des Bacillus mehr statt.

Einfluß der atmosphärischen Luft.

Bei Abwesenheit von Nitraten zeigt B. mycoides streng aerobes Verhalten sowohl bei Kulturen im Vakuum als auch in verschiedenen indifferenten Gasen. Kulturen in verschieden hoher Schicht zeigten in sehr prägnanter Weite eine mit abnehmender Schichthöhe zunehmende Ammoniakbildung. Darnach ist anzunehmen, daß in porösem Erdboden die Ammoniakausbeute immer noch höher ausfällt als unter günstigen Bedingungen in künstlichen Nährmedien.

Einfluß der Reaktion des Nährmediums.

In einem sauren Boden geht die Mineralisation des organischen Stickstoffs langsam vor sich, weil die für diesen Prozeß in Betracht kommenden Bakterien eine schwach alkalische Reaktion des Substrates lieben. Untersuchungen mit B. mycoides in Bezug auf das Verhalten gegen Säuren und Alkalien ergaben, daß bei Gegenwart von 0,02 Proz. H_2SO_4 noch Wachstum stattfand, nicht aber bei 0,04 Proz. Hingegen zeigte der Bacillus noch Entwicklung bei einem Zusatz von 0,2 Proz. Kaliumhydroxid, während bei 0,3 Proz. kein Wachstum mehr zu beobachten war.

Einfluß der Konzentration der Nährlösung.

Die Ueberführung von organischem Stickstoff in Ammoniak ist eine um so vollkommenere, je geringer der Gehalt der Lösung an ersterem ist. Einer diesbezüglichen Tabelle im Original sind folgende Zahlen entnommen:

No. des Versuchs	Eiweißstickstoff am Anfang des Versuchs in 25 ccm mg	Ammoniakstickstoff am Ende des Versuchs in 25 ccm mg	Prozente transformierten organischen Stickstoffs
1	80,0	34,3	42,9
3	48,0	22,7	47,3
5	16,0	13,8	86,2
7	3,2	3,3	100,0

Mit zunehmender Konzentration wird nicht nur weniger Ammoniak gebildet, sondern auch größere Mengen flüchtiger Fettsäuren, die bei Kulturen in sehr verdünnten Lösungen nicht auftreten. Der eigentliche Grund für die veränderte Zusammensetzung der Spaltungsprodukte wird weniger in dem Vorhandensein größerer Mengen Eiweißstickstoffs, sondern lediglich in der schnell sich steigernden alkalischen Beschaffenheit des Mediums liegen (d. Ref.).

Verhalten von B. mycoides gegen verschiedene Substanzen.

a) Eiweißähnliche Körper. Verf. hat die in der Tabelle aufgeführten Körper zu einer Nährsalzlösung, die in 200 g Wasser 1 g Dikaliumphosphat, 0,5 g Kochsalz und 0,5 g $MgSO_4$ enthielt, in Kölbchen gegeben und fand nach 20tägiger Versuchsdauer folgende Resultate:

Substanz	Verwendete Menge in g	Ammoniak im Kontrollversuch mg	Ammoniak in der Kultur mg
Caseïn	0,2	Spur	10,0
Fibrin	0,2	0,0	11,6
Gelatine	0,25	0,0	18,5
Gluten	0,2	0,0	4,5
Legumin	0,2	Spur	12,4
Myosin	0,1	2,3	8,3
Pepton	0,25	Spur	22,0

Wenn das Casëin in Milch gegeben wurde, so fand eine energischere Zersetzung statt. Es wurden in zwei Versuchen in einem Monat per Liter Milch 1,832 u. 1,572 g Ammoniak gebildet; trotzdem war die Milch nicht alkalisch geworden, weil das Ammoniak im Maße der Entstehung sich mit aus Milchzucker gebildeter Säure verband.

b) Nicht eiweißartige stickstoffhaltige organische Körper. Versuche wurden ausgeführt mit Leucin, Tyrosin, Creatin, Asparagin und Harnstoff. Weitaus die größte Ausbeute ergab Asparagin, während Harnstoff überhaupt nicht angegriffen wurde.

c) Nitrate. Dieselben treten zu der Lebensthätigkeit von B. mycoides in höchst eigenartige Beziehung. Verimpft man den Bacillus auf eine mineralische Nährlösung, welche Traubenzucker und etwa 2 g Salpeter pro Liter enthält, so kann man nach einigen Tagen in der Lösung sowohl Nitrit als auch Ammoniak nachgewiesen und nach ca. 15 Tagen nur noch Ammoniak. Ein und dieselbe Bakterienart äußerst also je noch den im Substrat gebotenen Verhältnissen einmal oxidierende (Albuminlösung), ein andermal reduzierende (Nitrat und Nährsalze enthaltende Zuckerlösung) Wirkung. Beide Prozesse hängen mit der Respiration des Mikroben eng zusammen. In einem Fall, bei der normalen Atmung, wird das Eiweiß mit Hilfe des Luftsauerstoffs verbrannt; im andern Falle, bei der intramolekularen Atmung muß der Nitratsauerstoff dazu dienen, den Zucker zu verbrennen.

Infolgedessen muß aber der Bacillus bei gleichzeitiger Anwesenheit von Zucker und Nitrat anaërob gedeihen können, welche Annahme durch das Experiment vollkommen bestätigt wurde.

d) Kohlehydrate. Die Untersuchungen beschränken sich auf die Beobachtungen der Wachstumserscheinungen in Lösungen von Hühnereiweiß, welchen verschiedene Kohlehydrate zugesetzt waren. Unter diesen Bedingungen bieten die Kulturen im allgemeinen folgendes Bild: Zuerst tritt Säurebildung auf und Albumin wird gefällt. Später lösen sich die Flocken nach und nach wieder (unter dem Einfluß einer Zymase, die den tryptischen Fermenten nahe zu stehen scheint), und infolge von Ammoniakbildung wandelt sich die frühere saure Reaktion in eine alkalische um.

Burri (Bonn).

Conn, H. N., Bacteria in the Dairy. VI. Experiments in Ripening Cream with Bacillus No. 41. (Seventh Annual Report of the Storrs Agricultural Experiment Station. Conn. 1894, p. 57.)

Vergl. die Originalmitteilung des Verf. in Jahrg. I. No. 11. p. 385 dieser Zeitschrift.

Burri (Bonn).

Loveland, A. E. and Watson, W. S., Bacteria in the Dairy. VII. Some observations of the number of Bacteria in Dairy products. (Annual Report of the Storrs Agricult. Exper. Station VII. p. 69.)

Milch. Umfassende Untersuchungen über den Keimgehalt der Milch, wie sie in Europa in einer Reihe von größeren Städten angestellt worden sind, existieren bis jetzt nicht in Nordamerika. Verff. führen nun die in Boston von anderer Seite erhaltenen Resultate an und berichten dann über die eigenen Untersuchungen in Middletown. Die Proben wurden in demjenigen Zustande steril aufgefangen, in welchem sie den Konsumenten vom Milchmann geliefert wurden. Der Keimgehalt von süßer Milch, die meist 3—6 Stunden alt war, schwankte im Mittel zwischen 11000 und 8452000 Keimen pro ccm. Mehrere Tage alte geronnene Milch hatte meist 200 bis 900 Millionen Keime, frisch entnommener Rahm 4060000, 2 Tage alter reifender Rahm 346040000 Keime.

Butter. Gesalzene und ungesalzene Butter verhielten sich in Bezug auf den Keimgehalt nicht wesentlich verschieden. Im allgemeinen nimmt der Keimgehalt einer Butter mit zunehmendem Alter ab. Ganz frische Butter zeigte per g 20—100 Millionen Keime, ein Jahr alte Proben gesalzener Butter enthielten 100000 und 150000 Keime per g. Verff. gelangen zu folgenden Ergebnissen:

Die Zahl der Bakterien in der Milch nimmt mit dem Alter sehr schnell zu, am schnellsten in der Wärme, weil diese dem Wachstum der Mikroorganismen überhaupt förderlich ist. Schnelle Abkühlung und Aufbewahrung bei niedriger Temperatur verhindert die Entwickelung der Keime.

Die Gegenwart von wenig Bakterien in einer Milch deutet auf sorgfältige Behandlung und Aufbewahrung sowie auch auf eine verhältnismäßige Frische derselben; saure Milch und gereifter Rahm enthalten immer viele Millionen von Keimen pro cc.

Bei Butter ist die Abnahme des Keimgehaltes in den ersten Stunden am auffälligsten, und zwar ist diese Abnahme in gesalzener Butter bedeutend größer als in ungesalzener, ebenso ist sie größer im Innern der Buttermasse als an der Außenseite.

Burri (Bonn).

Conn, H. N., Bacteria in the Dairy. VIII. Cream Ripening with pure Culturs of Bacteria. (Annual Report of the Storrs Agricult. Experim. Station. VII. p. 77.)

Im Anschluß an frühere Untersuchungen über den Rahmreifungsprozeß[1]) berichtet Verf. über weitere Versuche in dieser Richtung und beschreibt eine Reihe von Bakterien zunächst nach Herkunft, morphologischen Verhältnissen, Bewegung Luftbedürfnis, nach dem Verhalten auf Gelatine, Agar etc. Diese Arten stammen meist aus reifendem Rahm, aus süßer und saurer Milch der Umgegend, einige aus einer Milchprobe von Uruguay, wenige aus Luft und Wasser. Den allgemeinen Beschreibungen folgen für jede Art besondere Angaben über deren Einfluß auf den Reifungsprozeß des Rahmes. Die Versuche wurden in der Weise ausgeführt, daß bei 69° C pasteurisierte Rahmproben mit in Milch gezogenen Rein-

1) Sixth Annual Report of the Storrs Agric. Exp. Stat. Conn. 1893. p. 43—60.

kulturen der einzelnen Arten versetzt wurden; nach 24 oder 48 Stunden wurde dann auf Geschmack und Aroma geprüft. Verf. macht besonders darauf aufmerksam, daß sich seine Angaben in dieser Beziehung nie auf einzelne, sondern immer auf mehrere gut mit einander stimmende Befunde stützen.

Da die Versuche zum Teil noch im Gange sind, enthält sich Verf. eines abschließenden Urteils, macht aber interessante Bemerkungen über die bis jetzt von ihm behandelten Arten in Bezug auf deren Verhältnisse zur Milchsäurebildung. Der Rahmreifungsprozeß wird gewöhnlich als Rahmsäuerung bezeichnet, und in der That tritt bei der Butterbereitung normalerweise Milchsäure auf. Nach verschiedenen seiner Versuche muß aber Verf. annehmen, daß die Entstehung des specifischen Butteraromas von der Milchsäuregärung vollständig unabhängig ist. Von den 29 behandelten Arten produzieren 10 in Milch und Rahm Milchsäure, säuern also den Rahm; von diesen 10 erzeugen aber nur 2 eine gute Butter. 5 Arten riefen kaum nennenswerte Säuerung hervor, aber 2 derselben lieferten eine gute Butter, darunter befindet sich der oben erwähnte Bacillus No. 41. 12 Arten säuerten den Rahm überhaupt nicht oder machten ihn schwach alkalisch, aber 4 derselben lieferten gute Butter. Eine entschieden schlechte Butter wurde geliefert von 4 der Milchsäure produzierenden und von 5 der alkalische Reaktion hervorrufenden Arten. Aus diesen Ergebnissen dürfte schon jetzt zur Genüge hervorgehen, daß das specifische Butteraroma mit der Milchsäuregärung nichts gemein hat. Burri (Bonn).

Schaffer, F., Ueber den Einfluß des sog. Nachwärmens bei der Käsefabrikation auf die Reifungsprodukte der Käse.

v. Freudenreich, Ed., Ueber den Einfluß der bei dem Nachwärmen des Käses angewandten Temperatur auf die Bakterienzahl in der Milch und im Käse. (Landw. Jahrbuch der Schweiz. Bd. IX. p. 93 u. 100.)

Bekanntlich hat die bei dem sog. Nachwärmen des Käses eingehaltene Temperatur großen Einfluß auf die Konsistenz und das Gelingen des Käses überhaupt. Am deutlichsten sind die Unterschiede in dieser Beziehung zwischen den sogenannten Hartkäsen (Emmenthaler-, Gruyère-, Holländerkäse u. s. w.) und den überhaupt gar nicht nachgewärmten Käsen. Diesbezüglich verweisen wir auf die im Landw. Jahrbuch der Schweiz. 1894. p. 189 erschienene höchst interessante Arbeit von Stephan Bondzynski, „Zur Kenntnis der chemischen Natur einiger Käsearten“. Daß die bloße Bestimmung des Wasser-, Fett-, und Gesamtstickstoffgehaltes nicht genügt, um die Qualität eines Käses irgendwie richtig zu beurteilen, hat man längst eingesehen. Ueber den Reifegrad, den Nährgehalt und die Verdaulichkeit kann einzig die Untersuchung der Reifungsprodukte, d. h. der Veränderungen, welche die Käsemasse von der Fabrikation bis zur Ausreifung durchgemacht hat, Aufschluß

geben. Die Arbeiten von Weidmann, Beneke und Schulze und anderen liefern ein ziemlich großes und wertvolles Zahlenmaterial hierzu. Bondzynski war bestrebt, auch die verbreiteteren Weichkäse vergleichsweise in die Untersuchungen hineinzuziehen und beleuchtete damit namentlich den großen Einfluß der Fabrikationsweise im allgemeinen auf die Reifungsprodukte. Von der Annahme ausgehend, daß die letzteren sich hauptsächlich in einem unter bestimmten Kautelen hergestellten wässerigen Extrakte aus dem Käse vorfinden, untersuchte er solche Auszüge namentlich in zwei Richtungen. Er bestimmte einerseits die löslichen Eiweißstoffe, welche aus dem ursprünglichen Parakaseïn der Käse durch die Reifung gebildet werden und von diesem ganz abweichende Eigenschaften besitzen, anderseits die nichteiweißartigen Stickstoffverbindungen, die als Eiweißzersetzungsprodukte bezeichnet werden. Am meisten charakteristisch für die untersuchten Käse und zugleich leicht übersichtlich erscheinen die gefundenen Mengen Stickstoff, welche sowohl insgesamt als speziell in Form von Eiweißstoffen und auch von Eiweißzersetzungsprodukten in die Lösung übergegangen waren, wie aus folgenden der Arbeit von Bondzynski entnommenen Beispielen ersichtlich ist.

Untersuchte Käsearten	Vom Gesamtstoff der Käse wurden gelöst:		
	insgesamt	in Form von Eiweißstoffen	in Form von Eiweißzersetzungsprodukten
	Proz.	Proz.	Proz.
1) Emmenthaler, alt	31,93	11,30	20,63
2) "	32,61	14,90	17,71
3) Limburger, annähernd ausgereift	75,87	69,58	6,29
4) Romadour, nach Limburger Art bereitet, vollkommen ausgereift	81,16	77,71	3,45
5) Roquefort, gut ausgereift	48,37	26,50	21,87
6) Camembert	58,61	38,31	20,30

Die unter gleichen Kautelen in Lösung übergegangenen Eiweißstoffe sind demnach in Weichkäsen mehrfach so stark vertreten als in den Hartkäsen (Emmenthaler), während umgekehrt in einigen der ersteren sich viel weniger Eiweißzersetzungsprodukte vorfinden als in den letzteren. Der Roquefortkäse steht schon seiner Konsistenz und Fabrikationsweise nach ungefähr in der Mitte zwischen den Hartkäsen und Weichkäsen, was auch durch die obige Tabelle und insbesondere die Zahl für den gesamten löslichen Stickstoff bestätigt wird. Während die Limburgerkäse (3 und 4 der Tabelle) bezüglich der Quantität der Eiweißzersetzungsprodukte gegenüber dem Emmenthalerkäse stark zurückbleiben, stehen Roquefort und Camembert in dieser Hinsicht auf gleicher Stufe mit dem Emmenthaler.

Verf. untersuchte nun, wie weit solche charakteristische Merkmale der Reifungsprodukte sich innerhalb viel kleinerer Unterschiede in der Fabrikation und speziell infolge verschiedenen Nachwärmens bemerkbar machen. Zu diesem Zwecke wurden eine Anzahl kleiner

Versuchskäse (aus ca. 10 l Milch) nach Emmenthaler Art hergestellt und zwar so, daß zur Kontrolle am gleichen Tage je zwei Stück aus der gleichen Milch fabriziert wurden. Die Versuchskäse wurden nun bei 48, 52, 56 und 60° C nachgewärmt. Von den 8 Versuchskäsen wurden nach 3 Monaten 4 chemisch analysiert, nämlich die Käse II, IV, VI u. VIII. Folgende Tabelle, auf die fettfreie Substanz berechnet, giebt die Resultate wieder:

Käse No. Nachgewärmt auf:	II 48° C	IV 52° C	VI 56° C	VIII 60° C
	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.
Fettfreie Trockensubstanz	40,45	41,67	41,46	43,40
Gesamtstickstoff	12,47	13,68	12,66	10,35
Gesamtes Extrakt	39,06	36,02	29,59	28,50
Lösliche Asche	13,18	10,39	10,66	9,12
Gesamtstickstoff des Extraktes	3,81	3,58	2,60	2,60
Lösliche Eiweißkörper	19,60	18,38	13,58	13,89
Eiweißzersetzungsprodukte	6,28	7,25	5,35	5,48
Stickstoff derselben	0,81	0,77	0,54	0,48

Wie aus der Tabelle ersichtlich ist, findet bei zunehmender Nachwärmetemperatur entschieden eine Abnahme sowohl des gesamten wässerigen Extraktes als auch speziell der löslichen Eiweißkörper statt. Einzig No. VI zeigt hinsichtlich letzterer eine Ausnahme, doch mag dies Nebenumständen, wie geringerer Größe, etwas höherem Kochsalzgehalte u. s. w. dieses Versuchskäses zuzuschreiben sein. Auch sowohl der Gesamtstickstoff des Extraktes als auch derjenige der Eiweißzersetzungsprodukte zeigt eine stetige Abnahme.

Der nur auf 48° nachgewärmte Käse nähert sich somit hinsichtlich seiner Reifungsprodukte etwas den Eigenschaften, welche Bondzynski als charakteristisch für die Weichkäse nachgewiesen hat.

Am besten werden übrigens diese Verhältnisse veranschaulicht, wenn man analog den oben erwähnten Beispielen, aus der Arbeit Bondzynski's auch berechnet, wie viele Prozente des gesamten Stickstoffs der Versuchskäse auf den löslichen Teil derselben und zwar sowohl auf die löslichen Eiweißkörper als auch die Eiweißzersetzungsprodukte entfallen.

Wir geben die betr. Tabelle hier wieder:

Käse No.	Vom Gesamtstickstoff der Käse wurden gelöst:		
	insgesamt	in Form von Eiweißkörpern	in Form von Eiweißzersetzungsprodukten
	Proz.	Proz.	Proz.
II	30,60	24,05	6,56
IV	26,14	20,53	5,61
VI	20,57	16,38	4,19
VIII	25,17	20,49	4,68

Gut gelungene Phototypieen zeigen das Aussehen der Schnittflächen. No. I u. II waren gleichmäßig klein gelocht und etwas wässerig. No. III u. IV waren ziemlich normal gelocht. No. V u. VI waren sehr wenig und klein gelocht. No. VII u. VIII waren größer gelocht, aber sehr unregelmäßig.

Der vom Verf. aufgeworfenen Frage, ob diese Wirkung des Nachwärmens nicht etwa einer Abtötung diverser für die Käsereifung wichtiger Mikroorganismen zuzuschreiben sei und ob nicht durch die Anwendung einer geeigneten Nachwärmetemperatur für die Käsefabrikation gefährliche Bakterien unschädlich gemacht werden könnten, suchte v. Freudenreich in der zweiten eingangs citierten Arbeit experimentell näher zu treten. Daß manche Bakterien bei 50° bis 60° C absterben ist zwar bereits bekannt; bereits Miquel[1]) hat durch eingehende Versuche nachgewiesen, daß schon kurze Zeit dauernde Temperaturerhöhungen einen großen Teil der im Wasser vorkommenden Bakterienarten abtöten. Indessen durften die von letzterem Forscher mit Bezug auf das Wasser erhaltenen Resultate nicht ohne weiteres auf die Milch übertragen werden, da sie nicht die gleichen Bakterien beherbergen; auch waren für die Milch nur die Temperaturen zu berücksichtigen, welche bei dem Nachwärmen in Betracht kommen können, also solche zwischen 45°—60° C, dieselben aber auch dann so lange einwirken zu lassen, wie dieses in der Praxis geschieht. Da es ziemlich umständlich gewesen wäre, für jeden Versuch einen besonderen Käse herzustellen und jedesmal den Bakteriengehalt der Milch vor dem Nachwärmen und den Keimgehalt der Molke nach beendigtem Nachwärmen festzustellen, so begnügte sich Verf. damit — handelt es sich ja um die gleichen Bakterienarten — den Einfluß der Temperaturerhöhungen auf die Milch festzustellen. Eine beliebige Marktmilch wurde auf ihren Keimgehalt untersucht, dann in mehrere Kolben verteilt und diese jeweilen 30 Minuten und 1 Stunde lang Temperaturen von 45°, 50°, 55° u. 60° C. ausgesetzt und dann von neuem auf ihren Bakterienreichtum mittels des Plattenverfahrens untersucht; einigemale wurden auch Versuche mit der Temperatur der Pasteurisierens (68°—69° C) hinzugefügt. In zwei Versuchen endlich wurde sterilisierte Milch teils mit den Blähungserregern Bac. Guillebeau a[2]) und Bac. Schafferi[3]), teils mit einer im Camembertkäse gefundenen Hefe und mit Oïdium lactis infiziert und dann, wie oben gesagt, behandelt. Letzterer Versuch wurde gemacht, weil Hefe und Oïdium lactis in den nicht nachgewärmten Käsen äußerst zahlreich sind und auf diese Weise festgestellt werden konnte, ob ihr seltenes Vorkommen in den Hartkäsen auf die Wirkung des Nachwärmens zurückzuführen sei. Es wurden teils gewöhnliche Nährgelatine, teils Milchzuckergelatine verwendet, welche letztere den Milchsäurebakterien besser zusagt.

---

1) Miquel, Manuel pratique d'analyse bactériologique des eaux. p. 181.

2) Annales de Micrographie. Bd. II. p. 353.

3) Landw. Jahrbuch der Schweiz. 1890. p. 17 und Annales de Micrographie. Bd. III. p. 161.

Einige der vom Verf. mitgeteilten Tabellen mögen hier die Resultate veranschaulichen:

Marktmilch.

Anfängliche Keimzahl	6000 Bakt. per ccm
Nach 30 Minuten bei 50° C	1640 „ „ „
„ 1 Stunde bei 50° C	820 „ „ „
„ 30 Minuten bei 55° C	780 „ „ „
„ 1 Stunde „ 55° C	440 „ „ „
„ 30 Minuten bei 60° C	20 „ „ „
„ 1 Stunde „ 60° C	0 „ „ „

Marktmilch
(18 St. bei 20° aufbewahrt).

Anfängliche Keimzahl	2 550 000 Bakt. per ccm
Nach 30 Minuten bei 45° C	600 000 „ „ „
„ 1 Stunde „ 45° C	275 000 „ „ „
„ 30 Minuten bei 50° C	176 833 „ „ „
„ 1 Stunde „ 50° C	24 500 „ „ „
„ 30 Minuten bei 55° C	5 000 „ „ „
„ 1 Stunde „ 55° C	1 040 „ „ „
„ 30 Minuten bei 60° C	140 „ „ „
„ 1 Stunde „ 60° C	60 „ „ „

Sterilisierte Milch mit Bac. Guillebeau a und Bac. Schafferi infiziert.

Anfängliche Keimzahl	22 500 000 Bakt. per ccm
Nach 30 Minuten bei 50° C	30 000 000 „ „ „
„ 1 Stunde „ 50° C	16 250 000 „ „ „
„ 30 Minuten bei 55° C	10 000 000 „ „ „
„ 1 Stunde „ 55° C	450 000 „ „ „
„ 30 Minuten bei 60° C	20 „ „ „
„ 1 Stunde „ 60° C	0 „ „ „

Sterilisierte Milch infiziert mit einer Camemberthefe und Oïdium lactis.

Anfängliche Keimzahl	75 000 Oïdiumkol. u.	725 000 Hefekol. per ccm
Nach 30 Min. b. 45° C	75 000 „ „	250 000 „ „ „
„ 1 Std. „ 45° C	20 500 „ „	345 000 „ „ „
„ 30 Min. b. 50° C	37 500 „ „	90 000 „ „ „
„ 1 Std. „ 50° C	7 000 „ „	2 000 „ „ „
„ 30 Min. b. 55° C	0 „ „	0 „ „ „
„ 1 Std. „ 55° C	0 „ „	0 „ „ „
„ 30 Min. b. 60° C	0 „ „	0 „ „ „

Die übrigen Versuche gaben ganz gleichartige Resultate. Faßt man diese zusammen so sieht man, daß schon eine Temperatur von 45° viele der in der Milch enthaltenen Bakterien abtötet, ca. $^4/_5$ in einigen Versuchen. Bei längerer Einwirkung dieser Temperatur stirbt gewöhnlich noch eine Anzahl weiterer Bakterien ab. Zu bemerken ist auch der ungleiche Widerstand verschiedener Mikro-

organismen, z. B. Oïdium lactis und die Camenberthefe. Bei 50°, besonders nach einer Stunde, ist die Abnahme der Keime meist sehr bedeutend, noch mehr aber bei 55°. Bei letzterer Temperatur verschwinden Hefe und Oïdium lactis, was ihr seltenes Vorkommen in Hartkäsen erklärt. Bei 60° wird die Milch sehr keimarm, zuweilen blieb sogar die erste Platte, die stets mit 1 Tropfen (= $^1/_{20}$ ccm) geimpft war, vollständig steril.

Was die nähere Charakterisierung der allmählich verschwindenden Bakterien anlangt, so möchte Verf. aus so wenigen Versuchen noch nicht ganz allgemeine Schlüsse ziehen. Jedenfalls verschwinden am ehesten — zwischen 50°—55° — die zarteren Arten, wie Hefe- und Oïdiumpilze, sowie die verflüssigenden Kokken und manche sporenlose Bacillen, während die Klasse der Heubacillen (Tyrothrixarten, Kartoffelbacillen u. s. w.) die Temperaturen von 60° und 69° am leichtesten überstehen. Auch auf die in der Milch am zahlreichsten vertretenen Pilze, die Milchsäurebakterien, übt die Erhöhung der Temperatur eine sehr deletäre Wirkung aus; schon bei 45° nehmen sie an Zahl bedeutend ab; sie können jedoch in manchen Fällen die Temperatur von 60° überstehen, wenn auch ihre Zahl dann minim wird; manchmal auch verschwinden sie ganz, besonders dann, wenn die Milch von Anfang an sehr keimarm war.

In der Praxis freilich wird die durch das Nachwärmen erfolgende Abnahme der Bakterienzahl in etwas engeren Grenzen sich bewegen, da die Milch während des Ausrührens gegen Infektion von außen nicht geschützt bleibt und daher immer wieder neue Bakterien derselben zugeführt werden. Die Abnahme wird jedoch bedeutend genug bleiben, um die von Dr. Schaffer hervorgehobenen Unterschiede in der chemischen Beschaffenheit der bei verschiedenen Temperaturen nachgewärmten Käse zu erklären.

Endlich wurden noch 4 Käse aus mit Blähungsbakterien infizierter Milch hergestellt, um zu sehen, ob erhöhtes Nachwärmen das Blähen verhindern würde. Wie die der Arbeit beigegebenen Photogramme zeigen, blieben die bei 60° ausgerührten Käse frei von jeder Blähung, während die bei 52° u. 53° ausgerührten Kontrollkäse stark blähten.

Endlich erwähnt Verf. noch einige Versuche, die er über den Einfluß der Kälte auf die Zahl der Bakterien in der Milch anstellte. In einigen Versuchen nämlich war die anfängliche Keimzahl eine äußerst niedrige gewesen, was Verf. auf die damals herrschende außergewöhnliche Kälte zurückführen zu sollen glaubte, die möglicherweise auf dem Transport bakterientötend habe wirken können.

Wie die beiden folgenden Versuche zeigen, machte sich in denselben eine solche Wirkung thatsächlich geltend:

Versuch I.

Anfängliche Keimzahl				107 500	Bakt.	per	ccm
Nach	1	Stunde	bei 0°	68 500	„	„	„
„	2	Stunden	„ 0°	30 000	„	„	„
„	5	„	„ 0°	10 500	„	„	„
„	7	„	„ 0°	11 250	„	„	„
„	24	„	unter 0°	4 750	„		„

Versuch II.

Anfängliche Keimzahl	8 000 000 per ccm
Nach 2 Stunden bei 0⁰	5 800 000 „ „
„ 5 „ „ 0⁰	4 750 000 „ „
„ 7 „ „ 0⁰	4 075 000 „ „
„ 24 „ „ 0⁰	4 000 000 „ „

v. Freudenreich (Bern).

Krüger, Beiträge zur Kenntnis von Septoria graminum Desm. (Ber. der Deutsch. botan. Gesellschaft. Bd. XIII. Heft 4.)

Es handelt sich in der obenerwähnten Arbeit darum, ob genannter Pilz, den Herr Prof. Frank im Laufe des Sommers 1894 oft auf Weizen fand, wirklich der Erreger der ihn begleitenden Krankheitserscheinung ist.

Bei den zunächst vorgenommenen Keimungsversuchen mit den Sporen wurde festgestellt, daß die Sporen zuvörderst quellen, dann an beiden Enden einen Mycelfaden entwickeln, und daß sich dann an diesen eiförmige, auf der dem Mycelfaden zugewandten Seite zugespitzte Sporidien bilden. Letztere strecken und verdicken sich sofort, so daß sie das Ansehen von dicken, kurzen Mycelfäden bekommen und bilden ohne Ruhepause abermals Sporidien, die sich ihrerseits ebenfalls wieder in der geschilderten Weise verhalten. In Pflaumendekokt ist die ganze Erscheinung nur eine etwas schwächliche und kommt bald zum Stillstand, in Weizenabkochung dagegen ist sie äußerst lebhaft.

Mit möglichst vorsichtig herauspräparierten und isolierten Sporen wurden dann Uebertragungen auf gesunde Weizenblätter gemacht und die betr. Stellen markiert. Sehr bald verfärbte sich die Pflanze an dieser Stelle, es bildeten sich anfänglich isolierte helle, von dunklem Rande umsäumte Flecken und bald darauf trat dann ein vollständiges Absterben der Blätter von der Spitze her ein. Die ganze Erscheinung glich vollständig der an kranken Pflanzen beobachteten. Die fleckigen Stellen waren stark von Mycel durchwuchert. Den Pilz zur Fruktifikation zu bringen, gelang indessen nicht, aber auch in der Natur entstehen die Fruktifikationsorgane erst nach einiger Zeit.

Krüger (Berlin).

Halsted, B. D., Some Fungus Diseases of Beets. (New Jersey Agricultural College Experiment Station. Bulletin No. 107. 1895 January.)

Mehrere Runkelrübenkrankheiten werden beschrieben, von welchen zwei in New-Jersey heftig auftreten; A. Root Rot of Beets. Diese Krankheit wird durch eine unbestimmte Art von Phyllosticta erregt und befällt die im Felde aufgehäuften Rüben. Die Gewebe vertrocknen und faulen, erscheinen schwarz gefärbt und schrumpfen sehr zusammen. Zuweilen erstreckt sich die Krankheit über einen erheblichen Teil der Oberfläche. Schnitte frischer Rüben in einem feuchten Behälter wurden inokuliert und zeigten nach zwei Tagen

große Mengen Pycnidien. Indem man dünne, feuchte Baumwolltücher über die inokulierten Flächen deckte, um sie feucht zu erhalten, wurden die Pycnidien an der Oberfläche des Tuches völlig frei von Fremdstoffen gewonnen. Rübenblätter werden häufig von einer ähnlichen Phyllosticta befallen, und indem man einige derselben, von anderwärts entnommen, auf gesunde Rüben brachte, wurde die charakteristische Fäulnis erzielt. Aus diesem Umstande läßt sich folgern, daß man bei sorgfältiger Entfernung aller Blätter zur Zeit des Unterbringens der Rüben im Felde dem durch diese Krankheit bedingten Verfaulen derselben vorbeugen kann.

Der Verf. zeigt, daß der wohlbekannte Beet Leaf Spot (Cercospora beticola Sacc.) mit Bordeauxmischung erfolgreich behandelt werden kann. Während in dem Aussehen der Blätter ein beträchtlicher Unterschied war, war die Verschiedenheit zwischen Wurzeln von behandelten und nicht behandelten Pflanzen nicht so groß; wenngleich noch 26 Proz. zu gunsten der behandelten Pflanzen.

Der Verf. erwähnt das Vorkommen des Beet Rust (Uromyces Betae Pers.) in Californien, und des White Rust (Cystopus blitii Biv.) in Iowa, sowie das Auftreten des Scab (Oospora scabies Thaxter) an Zuckerrüben im Westen.

Die Empfindlichkeiten der Krankheit bei Phyllosticta und Cercospora sind mit Photographieen illustriert.

Atkinson (Ithaca, N. Y., U. S. A.).

Fischer, Ed., Die Zugehörigkeit von Aecidium penicillatum. (Hedwigia. Bd. XXXVI. 1895. p. 1—6 m. Abb.)

Aecidium penicillatum Müll., eine Roesteliaform auf Sorbus Aria, S. chamaemespilus und Pirus Malus, wurde bisher entweder zu Gymnosporangium clavariaeforme oder zu G. juniperinum oder zu einer besonderen Gymnosporangium-Art gehörig betrachtet. Verf. zeigt nun, daß die Gestalt der Peridienzellen und besonders die Skulptur ihrer Seitenwände in Gestalt von Leisten oder Höckern in verschiedener Ausbildung und Anordnung eine gute Speciesunterscheidung zwischen den Roesteliaformen abgeben; dieselben werden für eine Reihe von Arten beschrieben und abgebildet. Danach ist Aecidium penicillatum von den zu G. clavariaeforme und G. juniperinum gehörigen Aecidien verschieden und als Aecidiumform eines besonderen G. zu betrachten, welches, wie die genannten G.-Arten ebenfalls auf Juniperus communis lebt, wie dies Infektionsversuche von Hartig, Peyritsch u. a. ergeben haben. Als Name wird für dasselbe, wie schon Hartig gethan hat, Gymnosporangium tremelloides A. Braun beibehalten.

Es sind also für Mitteleuropa 5 Gymnosporangiumarten zu unterscheiden: G. Sabinae Dicks. und G. confusum Plowr. auf Juniperus Sabina, G. juniperinum (L.) Wint., G. clavariaeforme (Jacq.) und G. tremelloides A. Br. auf J. communis, z. T. auch auf J. nana.

Brick (Hamburg).

Schwarz, Frank, Die Erkrankung der Kiefern durch Cenangium Abietis. Beitrag zur Geschichte einer Pilzepidemie. 8°. 126 pp. 2 Taf. Jena (G. Fischer) 1895. Preis 5 M.

Im Jahre 1892 trat hauptsächlich auf Kiefern eine Krankheit auf, die sich durch Absterben der jüngeren Triebe und häufig auch Eingehen der ganzen Pflanze äußerte. Der Schaden, der dadurch den Forsten erwuchs, war nicht unbeträchtlich und legte es nahe, die Krankheit in ihren Ursachen gründlich zu erforschen.

Dies zu thun ist die Aufgabe des vorliegenden Buches. Als Ursache der Erkrankung ließ sich Cenangium Abietis nachweisen, ein Pilz, der zwar allenthalben auftritt, aber bisher noch nicht in diesem Umfange eine Epidemie verursacht hatte. Auf Schnitten durch junge Triebe ließ sich leicht das Mycel des Pilzes nachweisen. Es wuchert hauptsächlich in der Rinde und im Marke, durchsetzt später bei der Apothecienbildung aber auch das Holz reichlich. Die Mycelfäden finden sich sowohl in den Zwischenzellräumen, wie in den Zellen. Bemerkenswert ist die reichliche Harzbildung in dem befallenen Gewebe, ein Schutzmittel der Pflanze gegen den Parasiten. Rinde und junge Knospen werden durch das Mycel zum Absterben gebracht. Als Ort der Infektion ergab sich die Ansatzstelle junger Knospen; von hier aus verbreiteten sich die Hyphen nach den älteren Trieben, dieselben bisweilen bis zum 17. Jahrestrieb durchsetzend. Die Infektion findet während der Ruheperiode der Bäume statt. Im Sommer beginnen sich die Apothecien zu entwickeln, im September finden sich reife Sporen. Daneben sind noch zweierlei Arten von Pykniden anzutreffen, welche äußerlich ununterscheidbar verschieden gestaltete Sporen enthalten. Die einen besitzen einzellige, stäbchenförmige, 3—5 μ lange und 1,2—2,4 μ breite Conidien, die andern dagegen sichelförmig gekrümmte, mehrzellige Sporen von 24—40 μ Länge und 3 μ Breite. Nicht an jedem Zweige sind alle Fruktifikationsformen vorhanden, meist sogar nur eine oder zwei.

Von Hartig und Kienitz waren Witterungseinflüsse für das Entstehen der Krankheit verantwortlich gemacht worden. So sollten Frost und Feuchtigkeit die Ursachen sein. Verf. geht ausführlich auf die Ansichten beider Forscher ein und weist überzeugend die Richtigkeit seiner Anschauungen nach. Aeußerlich ähnlich ist die Krankheit derjenigen, welche die Kiefernadelscheidengallmücke (Diplosis brachyntera) hervorbringt, kann aber natürlich leicht durch den Verlauf der Krankheit unterschieden werden.

Wichtig ist nun, was Verf. über die geographische Verbreitung der Epidemie und über ihre Ursachen sagt. Letztere Ausführungen namentlich dürften auch für andere Pilzkrankheiten Gültigkeit besitzen. Um eine Epidemie zu erzeugen, muß das Pilzmaterial infektionstüchtig und die Nährpflanzen zu einer Infektion geeignet sein. Der Pilz muß also eine weitere Verbreitung und eine höhere Virulenz als gewöhnlich besitzen. Die Ursachen, um diese in dem gegenwärtigen Falle zu erzeugen, findet Verf. in der abnorm feuchten Witterung im Jahre 1890 u. 91. Die Analoga, die zum Beweise an-

geführt werden, lassen diese Ansicht nicht unrichtig erscheinen. Denselben Gründen, sowie dem Frost des Winters verdanken die Kiefern aber auch ihre geringere Widerstandsfähkeit gegen die Infektion. Lebhaft wachsende Triebe, ferner junge Pflanzen unter 4 Jahren sind gegen den Pilz immun. Inwiefern der Standort der einzelnen Bäume sie für Infektion befähigt oder nicht, darauf geht Verf. an der Hand zahlreicher Berichte aus sehr vielen Oberförstereien genauer ein.

Wichtig ist auch der Nachweis, daß weniger die Cenangiumkrankheit den Tod der Bäume veranlaßt hat, als vielmehr spätere Krankheiten, welche die durch den Angriff von Cenangium geschwächten Bäume befallen haben. Dahin gehören außer einigen Pilzkrankheiten vor allem Schädigungen durch Insektenfraß. Deshalb will Verf. von Maßregeln gegen den Pilz selbst absehen, möglicht aber die Folgekrankheiten zu verhüten suchen.

In Betreff sehr zahlreicher, zum Teil für den Phytopathologen wichtiger Einzelheiten muß auf das Buch selbst verwiesen werden.

Lindau (Berlin).

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Cluß, A., Zu den Versuchen in Bier mit nach Effront akklimatisierten Heferassen. (Daselbst p. 206.)

Im Gegensatz zu Wittelshöfer hält Verf. daran fest, daß daß Effront'sche Verfahren in seiner neuen Form für die Praxis große Vorteile biete, zumal doch schon früher die Vorzüge der Anwendung von Antiseptica, speziell von Flußsäure in einer weniger rationellen Form allgemein anerkannt worden seien. Den Ausführungen des Verf.'s, die sich übrigens auf rein praktischem Gebiete bewegen, sei die Angabe entnommen, daß sich die in Flußsäure geführte Reinhefe konstant als solche erhält und in absehbarer Zeit nicht erneut zu werden braucht. Bei gewöhnlicher Hefe muß man dagegen einen Reinzuchtapparat aufstellen oder die Hefe in bestimmten Zwischenräumen neu beziehen. Mit der Ansicht. daß nach dem neuen Effront'schen Verfahren jede beliebige Hefe durch entsprechende Kultur dazu gebracht werden kann, als „brillante“ Brennereihefe zu funktionieren, geht Verf. entschieden zu weit. Eine an diese Mitteilung anknüpfende Redaktionsnote erinnert an einen Aussprnch Märkers, wonach wahrscheinlich die gärfähigste Rasse, die man durch Reinzucht gewonnen hat, auch die besten Resultate unter dem Einfluß der Flußsäure geben wird. Burri (Bonn).

Schutzimpfung, künstliche Infektionskrankheiten, Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Windisch, Wilhelm, Ueber die Desinfektion von Räumen durch gasförmigen Formaldehyd. (Zeitschr. f. Spiritusindustrie, XVIII. Jahrg., p. 201.)

Verf. schlägt vor, die Desinfektion von Kellern, Tennen, Fässern u. s. w. mittels gasförmigen Formaldehyds vorzunehmen, welcher durch unvollständige Verbrennung von Methylalkohol zu erzeugen ist. Für die Praxis würde sich zu diesem Zwecke eine vergrößerte Jaeger'sche Ozogenlampe empfehlen, welche ähnlich wie eine gewöhnliche Spirituslampe gebaut ist, aber außerdem einen Cylinder aus Platinblech oder Platindraht trägt, in dessen unteres Ende der Lampendocht hineinragt. Nach dem Auslöschen der Lampe glüht der Cylinder weiter und zwar unter Verbrennung des Holzgeistvorrates zu gasförmigem Formaldehyd.

Cambier und Brochet (Revue d'hygiéne 1895. Bd. 17. p. 120) haben neuerdings den gasförmigen Formaldehyd zur Desinfektion von Räumen vorgeschlagen und zu dem Zwecke eine Vorrichtung konstruiert, welche die Erzeugung von großen Mengen des Gases an verschiedenen Punkten einer mit Methylalkohol gespeisten Röhrenleitung gestattet.

Die von verschiedenen Seiten erhobenen Bedenken gegen die Verwendung von Formaldehyd kann Verf. nicht teilen, denn Keller und andere größere Räume können nach erfolgter Desinfektion so gelüftet werden, daß die letzten Spuren des Gases in kurzer Zeit entfernt sind und Fässer oder Bottiche braucht man nur einige Zeit mit Wasser gefüllt stehen zu lassen; der Formaldehyd löst sich darin und kann durch öfteres Nachspülen mit frischem Wasser vollständig beseitigt werden. Burri (Bonn).

Berlese et Sostegni, Recherches sur l'action des sels de cuivre sur la végetation de la vigne et sur le sol. (La revue internationale de viticulture et oenologie.)

Millardet et Gayon haben die Ansicht ausgesprochen, daß Kupfer ein Reservegegenmittel, also ein Mittel mit nachhaltiger Wirkung gegen pilzliche Infektion sei, daß also ein Blatt, wenn auch nur ein Teil desselben, mit Kupfer in Berührung sei, vollständig geschützt werde, indem sich das Kupfer unter dem Einfluß der atmosphärischen Einwirkung langsam auflöse und zum großen Teile absorbiert werde.

Berlese und Sostegni suchen diese Ansicht in vorliegender Arbeit zu widerlegen, resp. zu berichtigen.

Nachdem sie im ersten Teile dieser Arbeit eine historische Uebersicht über die bisher erschienenen, diesen Gegenstand betreffenden Arbeiten gegeben haben, gehen sie im zweiten Teil auf die Wirkung des Kupfers auf die Pflanzen selbst ein.

Sie stellten gesunde Zweige in 3- und 5-prozentige Kupfersulfatlösung, infizierten sie mit Peronospora und beobachteten die Entwickelung derselben auf den Zweigen, die teils von einer Glocke bedeckt, teils unbedeckt standen. Dieselben Versuche machten sie mit Zweigen, die schon von vornherein krank waren. Auch peronosporakranke Blätter legten sie auf die Oberfläche einer 5⁰/₀₀. Kupfersulfatlösung. Die Resultate dieser Experimente waren in allen Fällen die gleichen: die Kupferlösung tötete zunächst allmählich die den Gefäßen benachbarten Zellen, drang dann in dieselben ein, und das Peronosporamycel entwickelte sich trotzdem in allen Fällen mehr oder weniger üppig. Bei dem Versuch, den Weg, den die Kupferlösungen im Innern der Pflanze nehmen, zu verfolgen, stellten die Autoren fest, daß namentlich die Collenchymzellen, dann aber auch die anderen parenchymatischen Gewebe es seien, die das Kupfer absorbierten, daß aber nie die Cuticula es thue, was Millardet behauptet.

Pflanzen, die in Kupferlösung gewachsen sind, speichern das Kupfer in dem abgestorbenen Rindengewebe der Wurzel auf.

In der Asche bespritzer und hernach durch Salzsäurewaschungen vollständig vom Kupferüberzug befreiter Blätter war Kupfer stets, freilich nur in außerordentlich minimalen Mengen, durch blausäurehaltige Guajaktinctur nachweisbar, doch waren trotz reichlicher Bespritzung mit starken Kupferlösungen diese Mengen viel zu gering, um etwa als Präservativmittel gegen das relativ widerstandsfähige Peronosporamycel dienen zu können. Die Wirkung des Kupfers braucht demnach nicht, wie Rumm angiebt, auf Chemotaxe zu beruhen, sondern ist Folge der Anwesenheit und direkten Wirkung der minimalsten Kupfermengen innerhalb des Pflanzengewebes. Ferner wird das Kupfer nicht infolge eines Bedürfnisses von der Pflanze absorbiert, sondern nur mechanisch durch Osmose von der Pflanze aufgenommen. Die von Millardet und Gayon ausgesprochene Theorie von der Wirkung des Kupfers als Reservegegenmittel glauben die Verf. in der Weise erklären zn können, daß sich auf der Oberfläche der betreffenden, von den erstgenannten Autoren untersuchten Blättern noch Kupferspuren befunden haben, da sich diese durch Wasser sehr schwer entfernen lassen, und daß diese Kupferreste es gewesen sind, welche die Entwicklung der Peronospora hemmten, da namentlich die Sporen dieses Pilzes sehr empfindlich gegen Kupferlösung sind. Nur so lange ist nach Berlese's und Sostegni's Annahme das Blatt gegen Peronospora geschützt, als sich auf der Oberfiäche desselben wasserlösliche Verbindungen befinden.

Die von Rumm und anderen Autoren beobachtete intensivere Grünfärbung rührt nach diesen Forschern von einer Vermehrung des Cyanophylls her, und hiermit hängt dann wiederum eine längere Lebensdauer, größerer Widerstand gegen äußere Einflüsse, schnelleres Reifen der Früchte etc. zusammen.

Teil III dieser Arbeit endlich behandelt die verschiedenen Zersetzungen, welche die Kupfersalze in der Erde etc. erleiden, und die Einwirkung verschiedener Bodenbestandteile auf genannte Verbindungen.

Vor allen Dingen widerlegen die Verf. die landläufige Ansicht, daß sich bei der Bordeauxbrühe nur $Cu(OH)_2+CuSO_4$, d. h. Kupferoxydhydrat und Kupfersulfat bilde. Es entsteht vielmehr, je nach den Mengenverhältnissen der Mischungsbestandteile und der Einwirkung sonstiger Faktoren, eine Anzahl basischer Doppelsalze, die durch die Kohlensäure der Atmosphäre, der gesprizten Pflanze und des verwendeten gebrannten Kalkes, der ja nie ganz rein ist von kohlensaurem Kalke, in lösliche Bicarbonate umgesetzt werden. Gerade diese aber sind es, welche für die weiteren chemischen Umsetzungen, und damit für die Pflanze, die größte Bedeutung haben.

Betreffs der weiteren Einzelheiten dieser sehr interessanten Arbeit, die namentlich in physiologischer Hinsicht noch manche dankenswerte Gesichtspunkte bietet, sei auf das Original verwiesen.

Krüger (Berlin).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

DR. WILHELM WINDISCH.

Allgemeines über Bakterien und andere Mikroorganismen.

Boutroux, L., Revue des travaux sur les Bactéries et les fermentations publiés pendant l'année 1892. [Fin.] (Revue générale de Botanique. T. VII. 1895. No. 78.

Dangeard, P. A. et **Sappin-Trouffy**, Réponse à une note de Mell. G. Poirault et Raciborski sur la karyokinèse chez les Urédinées. (Le Botaniste. Sér. IV. 1895. p. 196—198.)

Magnus, P., Dritter Nachtrag zu dem Verzeichnis der im botanischen Garten zu Berlin beobachteten Ustilagineen und Uredineen. (Verhandlungen des botanischen Vereins der Provinz Brandenburg. Jahrg. XXXVI. 1895. p. 115—124.)

Marchand, Léon, Synopsis et tableau synoptique des familles, qui composent la classe des Phycophytes (Algues, Diatomées et Bactériens).

Tranzschell, W., Peronospora corallae n. sp. (Hedwigia. Bd. XXXIV. 1895. p. 214.)

Wegelin, H., Beitrag zur Pyrenomycetenflora der Schweiz. (Mitteilungen der Thurgauischen Naturforscher-Gesellschaft zu Frauenfeld. Heft XI. 1894. p. 1—12.)

Wehmer, C., Beiträge zur Kenntnis einheimischer Pilze. Experimentelle Untersuchungen auf dem Gebiete der Physiologie, Biologie und Morphologie pilzlicher Organismen. II. 1) Untersuchungen über die Fäulnis der Früchte. (Mit 3 Tafeln.) 2) Die physiologische Ungleichwertigkeit der Fumar- und Maleïnsäure, sowie die antiseptische Wirkung der letzteren. (Mit 3 Tabellen.) 3) Die Nährfähigkeit von Natriumsalzen für Pilze. (Mit 3 Tabellen.) 4) Die in und auf Lösungen freier organischer Säuren mit Vorliebe auftretenden Pilzformen. (Mit 3 Abbildungen.) 5) Zur Frage nach der Bedeutung von Eisenverbindungen für Pilze. 6) Ueber das Vorkommen des Champignons auf den deutschen Nordseeinseln, nebst einigen Bemerkungen über die Pilzflora derselben. 8°. VIII, 184 p. Jena (Gustav Fischer) 1895. 7 M.

Winogradsky, S., Assimilation de l'azote libre de l'atmosphère par les microbes. (Archives des sciences biologiques de St. Pétersbourg. T. III. 1894. No. 4.)

Systematik, Morphologie und Biologie der Bakterien und anderer Mikroorganismen.

d'Arcy, R. F. and **Hardy, W. B.**, Note on the oxidising powers of different regions of the spectrum in relation to the bactericidal action of light and air.

Artaud, Les toxines microbiennes. 8°. Av. fig. Paris (J. B. Baillière & fils) 1895. 3,50 fr.

Beiträge zur Physiologie und Morphologie niederer Organismen. Aus dem kryptogamischen Laboratorium der Universität Halle a. S. Hrsg. von H. Zopf. Heft 5. gr. 8°. III, 72 p. mit 3 fig., 2 lith. u. 1 Lichtdrucktafel. Leipzig (Arthur Felix) 1895. 6 M.

Guinard, L. et **Artaud, J.**, Quelques particularités rélatives au mode d'action et aux effets de certaines toxines microbiennes. (Arch. de méd. experim. 1895. No. 3. p. 388—417.)

Lattraye et **Miquel**, De la résistance des spores des bactéries aux températures humides égales et supérieures à 100°. (Annales de micrographie. 1895. No. 3.)

Ward, H. M., The action of light upon bacteria. (Phil. Trans. Roy. Soc. 1895. p. 961.)

Allgemeine Gärungsphysiologie.

Bourquelot et **Hérrissey**, Arrêt de la fermentation alcoolique sous l'influence des substances sécrétées par une moisissure. (Comptes rendus hebdomadaires de la Société de biologie à Paris. 1895. Séance du 27 juillet.)

Miquel, Etude sur la fermentation ammoniacale et sur les ferments de l'urée. (Annales de micrographie. 1895. No. 2.)

Weinbereitung.

Bernheimer, Oskar, Beiträge zur Kenntnis reiner Weinhefen. (Allgemeine Weinzeitung. 1895.

Schulze, C., Die Anwendung des Pasteurisierens gegen Nachgärungen der Weine auf den Flaschen. (Landwirtschaftliche Jahrbücher. Bd. XXIV. 1895. Heft 3. p. 403.)

Molkerei.

Freudenreich, v., Ueber den Einfluß der bei dem Nachwärmen des Käsebruchs angewendeten Temperatur auf die Bakterienzahl in der Milch und im Käse. (Milchzeitung. Jahrg. 24. 1895. No. 39. p. 635.)

Hochstetter, Robert W., Ueber das Sauerwerden der Milch. Vortrag gehalten auf der Sitzung am 15. März 1895 der American Chemical Society, Cincinati Section.

du Roi, Ueber die Anwendung von Milchsäure-Reinkultur bei der Rahmsäuerung, sowie über das Pasteurisieren von Vollmilch und Rahm. (Der Landbote. Jahrg. XVI. 1895. No. 79. p. 693.)

Nahrungs- und Genußmittel, Konserven etc.

Basenau, F., Over het lot van Cholerabacillen in versche melk. (Nederl. Tijdschr. v. Geneesk. 1895. No. 20. p. 1023—1033.)

Eber, W., Instruction zur Untersuchung animalischer Nahrungsmittel auf Fäulnis. 8°. V, 42 p. Berlin (Richard Schoetz) 1895. 1 M.

Elsner, F., Die Praxis des Chemikers bei Untersuchung von Nahrungs- und Genußmitteln, Gebrauchsgegenständen und Handelsprodukten, bei hygienischen und bakteriologischen Untersuchungen, sowie in der gerichtlichen und Harnanalyse. 6. Aufl. Mit Abbildgn. u. Tab. im Text. 10. (Schluß-)Liefg. gr. 8°. XIV, p. 721—829. Hamburg (Voß) 1895. 1,25 M.

Freudenreich, E. v., Dairy bacteriology: A short manual for the use of students in dairy schools, cheese makers, and farmers. Transl. from the German by J. R. A. Davis. 8°. 122 p. London (Methuen) 1895. 2 sh. 6 d.

Leffmann, H., Milk inspection and milk standards. (Med. News. 1895. 2 Febr.)

Ostertag, R., Handbuch der Fleischbeschau für Tierärzte, Aerzte und Richter. 2. Aufl. gr. 8°. XVI, 732 p. m. 161 Abbildg. Stuttgart (Enke) 1895. 16 M.

Paschke, Die Aufbewahrung und Konservierung der Nahrungs- und Genußmittel. gr. 8°. Berlin (Schuhr) 1895. 0, 50 M.

Schrank, Jos., Bakteriologische Untersuchungen fauler Kalkeier. (Ztschr. des österreichischen Apothekervereins. Bd. XXXIII. 1895. p. 395—397.)

Troitzky, J. W., Die Wichtigkeit der sterilisierten Kuhmilch als Nahrung für kranke Kinder. (Arch. f. Kinderheilk. Bd. XVIII. 1895. Heft 5/6. p. 421—431.)

Trouessart, E. L., Les parasites des habitations humaines et des denrées alimentaires ou commerciales. In 16⁰. 168 p. avec figures. Paris (G. Masson) 1895. Encyclopédie scientifique des aidemémoire, section du biologiste. No. 21 B.

Luft, Wasser, Boden.

Dupré, A., Note on the chemical and bacteriological examination of water, with remarks on the fever epidemie of Worthing in 1893. (Analyst. Bd. XX. 1895. p. 73—79.)

Frankland, E., On the conditions affecting bacterial life in Thames water. (Proceedings of the Royal Society. Bd. LVII. 1895. No. 345. p. 439—449.)

Notter, L., The relations between the conditions of the soil and the prevalence of epidemic and endemic diseases. (Lancet. 1895. No. 21. p. 1314—1315.)

Ruete, A. und **Enoch, C.,** Bakteriologische Luftuntersuchungen in geschlossenen Schulräumen. (Münch. med. Wchschr. 1895. No. 21, 22. p. 492—494, 517—519.)

Rullmann, Chemisch-bakteriologische Untersuchung von Zwischendeckfüllungen mit besonderer Berücksichtigung von Cladothrix odorifera. (Forschungsberichte über Lebensmittel etc. Bd. II. 1895. p. 177—181.)

Thresh, J. C., The interpretation of the results obtained upon the chemical and bacteriological examination of potable waters. (Analyst. Bd. XX. 1895. p. 60—91, 97—111.)

Whipple, G. C., Some observations on the growth of diatoms in surface waters. (From the Technol. quarterly. Vol. VII. 1894. No. 3. p. 214—231.) gr. 8⁰.

Durch Parasiten verursachte Krankheiten der Pflanzen.

A banana discease. (Jour. Trinidad Field Nat. Club. Bd. II. 1895. No. 6. p. 146.)

Alwood, W. B., Ripe rot or bitter rot of apples. (Bulletin Va. Exp. Sta. XL. 1894. p. 56—82. With 1 pl.)

— —, Ripe rot or bitter rot of apples. (Virginia Sta. Bul. XL. 1895. p. 59—82. With 2 pls.)

Ascochyta pisi, an injourious parasite on peas. (Gard. Chronicle, ser. 3. Bd. XVII. 1895. No. 437. p. 584.)

Barber, C. A., Note on sugar-cane diseases. (Agl. Journ. Leeward Islands. 1895. No. 3. p. 53—57.)

Behrens, J., Phytopathologische Notizen. II. Nectria cinnabrina. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. V. 1895. 4. Heft. p. 193.)

Bolley, H. L., Treatment of wheat smut and potato scab. With 2 figs. (North Dakota Sta. Bul. XIX. p. 125—134.)

Dangeard, P. A., Note sur le Cladosporium du pommier. (Le Botaniste. Sér. IV. 1895. p. 190—195. Avec fig.)

Doering, Einiges über Phoma betae. (Der Landwirt. Jahrg. XXXI. 1895. No. 78. p. 463.)

Eidam, E., Die Wiesenwanze (Lygus pratensis L.) als Kartoffelschädling. (Der Landwirt. Jahrg. XXXI. 1895. No. 60. p. 355.)

Eriksson, J., Ist die verschiedene Widerstandsfähigkeit der Weizensorten gegen Rost konstant oder nicht? (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. V. 1895. Heft 4. p. 198.)

Frank, Der Lupinenrost, ein neuer Feind der Lupinen. (Deutsche landwirtschaftliche Presse. Jahrg. XXII. 1895. No. 79. p. 715.)

Grosjean, Notes sur le Macrosporium de la pomme de terre aux Etats-Unis. (Extr. du Bulletin du Ministère de l'Agriculture. 1895). 8⁰. 4 pp. Avec fig. Paris (Imp. nat.) 1895.

Hallier, E., Die Pestkrankheiten (Infektionskrankheiten) der Kulturgewächse. Nach streng bakteriologischer Methode untersucht und in völliger Uebereinstimmung mit R. Koch's Entdeckungen geschildert. Stuttgart (E. Nägele) 1895. gr. 8⁰. 15 u. 144 p. M. 7 Tafeln. 8 M.

Hart, J. H., Report of the Royal Botanic Gardens. (Trinidad 1894. p. 15.)

Hayllar, Thomas C., Vine Peronospera. (The Gardeners Chronicle. Ser. III. Vol. XVIII. 1895. p. 74.)

Hemsley, W. Botting, Parasites. (The Gardeners Chronicle. Ser. III. Vol. XVIII. 1895. p. 6—7.)

Jakobasch, E., Ueber einige Pelorien von Linaria vulgaris Mill. und die Entstehung der Pelorien überhaupt. (Verhandl. des botanischen Vereins der Provinz Brandenburg. Jahrg. XXXIV. 1895. p. XCI—CIX.)

King, Robert, Failure of plants of summer-flowering Asters. (The Gardeners Chronicle. Ser. III. Vol. XVIII. 1895. p. 216.)

Kirk, T. W., Fungus diseases. With 1 fig. (New Zealand Dept. Agr. Rpt. 1894. p. 53—58.)

Le Sueur, P. F., The sleepy disease of tomatos. (The Gardeners Chronicle. Ser. III. Vol. XVIII. 1895. p. 45.)

Misciatelli, Margherita Pallavicini, Marchesa, Zoocecidii della flora italica conservati nelle collezioni della R. Stazione di Patologia Vegetale in Roma. (Bullettino della Società Botanica Italiana. 1895. p. 84—93.)

Peck, C. H., New species of fungi. (Torrey Bul. 22. 1895. No. 5. p. 198—211.)

Raspberry anthracnose. (New York State Sta. Bull. 81. p. 592—594.)

Riley, C. V., The San José scale. With 6 figs. (Maryland Sta. Bul. 32. p. 87—111.)

Stedman, J. M., Insects injurious to stored grain. With 15 figs. (Alabama College Sta. Bul. 61. p. 35—60.)

Stinson, J. T., Insects injurious to fruits and vegetables and remedies for destroying them. With 18 figs. (Arkansas Sta. Bul. 33. p. 55—97.)

Van Bambeke, Ch., Note sur une forme monstrueuse de ganoderma lucidum (Leys). (Extrait de Botanisch Jaarboek, publié par la Société botanique Dodoneae, de Gand. Année VII. 1895. p. 93—116.) 8°. 13 pp. Gand (J. Vuylsteke) 1895.

Webber, H. J., Preliminary notice of a fungous parasite on Aleysodes Citri R. and H. (Extract from the Journal of Mycology. Vol. VII. 1895. No. 4. p. 363—364.) 8°.

Webster, F. M., The San José Scale. With 1 pl. 5 figs. (Ohio Sta. Bul. 56. p. 81—96.)

Winkler, A., Anomale Keimungen. (Verhandl. des botanischen Vereins der Provinz Brandenburg. Jahrg. XXXVI. 1895. p. 125—140.)

Wood, A. H., The flow of maple sap. (Bulletin N. H. Exp. Station. XXIV. 1895. p. 8.)

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Jelineck, Otto, Verwendung des Stabilites zum Aufkleben von Celloidinpräparaten (Ztschr. für wissenschaftl. Mikroskopie. Bd. XI. 1895. p. 237—242.)

Lardowsky, M., Ueber einen mikrophotographischen Apparat. (Ztschr. f. wissenschaftl. Mikroskopie. Bd. XI. p. 313—320.)

Neuhaus, R, Das erste Mikrophotogramm in natürlichen Farben. (Ztschr. f. wissenschaftliche Mikroskopie. Bd. XI. 1895. p. 329—331.)

Zimmermann, A., Das Mikroskop. 8°. 324 pp. Mit 231 Abbildungen. Leipzig u. Wien (F. Deuticke) 1895.

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien.

Canalis P., Esperienze sugli apparechi di disinfezione a vapore e sui metodi piu adatti per controllarne il funzionamento. 8°. 91 p. Roma 1895.

Dieudonné, A., Eine einfache Vorrichtung zur Erzeugung von strömenden Formaldehyddämpfen für Desinfektionszwecke. (Arb. a. d. kaiserl. Gesundh.-Amt. Bd. XI. 1895. Heft 3. p. 534—543.)

Govaert, Leopold, De behandeling der aardappels tegen de plaag. Eenvondig verklaard aan de landlieden. 8°. 16 pp. Gand (A. Siffer) 1895. Fr. —.10.

Korff, Weitere Mitteilungen über das Loretin. (Münchener med. Wochenschrift. 1895 p. 646.)

Neufeld, J., Die Desinfektion durch Dampf. (Wien. Klinik. Heft 6. p. 131—166.) gr. 8°. Mit 16 Holzschn. Wien (Urban & Schwarzenberg) 1895. 0,75 M.

Otto, R., Eignen sich mit Mineralölen getränkte Lappen zur Bekämpfung von niederen Pflanzenschädigern. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. V. 1895. Heft 4. p. 200.)

Rideal, S., Disinfection and disinfectants, an introduction to the study of. Together with an account of the chemical substances used as antiseptics and preservatives. London (C. Griffin & Co.) 1895. 12 sh. 6 d.

Sempolowski, A., Beitrag zur Bekämpfung der Kartoffelkrankheit. ((Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. V. 1895. Heft 4. p. 203.)

Spray calendar. (Delaware Sta. Special. Bul. B. p. 1.)

Vernichtung der Leguminosenpilze durch Aetzkalk. (Der Landwirt. Jahrg. XXXI. 1895. No. 60. p. 356.)

Inhalt.

Originalmitteilungen.

Referate.

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Schutzimpfung, künstliche Infektionskrankheiten, Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien und Parasiten.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

1895. Centralblatt Bd. I. No. 20/21.
für Bakteriologie und Parasitenkunde.
II. Abteilung.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie und Parasitenkunde.

Zweite Abteilung:

Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie und Pflanzenpathologie.

In Verbindung mit

Prof. Dr. **Adametz** in Krakau, Dr. W. M. **Beyerinck** in Delft, Prof. Dr. **A. B. Frank** in Berlin, Dr. **v. Freudenreich** in Bern, Prof. Dr. **Emil Chr. Hansen** in Kopenhagen, Dr. **Lindner** in Berlin, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Dr. **Erwin F. Smith** in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. **Stutzer** in Bonn, Privatdocent Dr. **Wehmer** in Hannover, Dr. **Weigmann** in Kiel, Dr. **Wilfarth** in Bernburg und Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg.

herausgegeben von

Dr. O. Uhlworm in Cassel.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

I. Band. Jena, den 3. Dezember 1895. **No. 22/23.**

Preis für den Band (26 Nummern) 16 Mark.

Original - Mittheilungen.

Experimentelle Untersuchungen über die vermeintliche Umbildung des Aspergillus oryzae in einen Saccharomyceten.

Vorläufige Mitteilung

von

Alb. Klöcker und **H. Schiönning,**
Assistenten am Carlsberg Laboratorium.

Wehmer hat neulich in zwei Abhandlungen[1]) über Aspergillus oryzae und die Sakéfabrikation in Japan die vorliegende Frage sowohl einer historischen als einer experimentellen Behandlung

1) C. Wehmer, Aspergillus oryzae, der Pilz der japanischen Saké-Brauerei. (Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. 2. Abt. Bd. I. 1895. No. 4/5. p. 150 und No. 6. p. 209).

— — Sakébrauerei und Pilzverzuckerung. (Ibid. No. 15/16. p. 565).

unterworfen. Das Resultat seiner Untersuchungen war, daß es ihm in keinem Falle gelang, eine Hefebildung bei Asp. oryzae zu beobachten.

Zwei japanische Forscher, Kosai und Yabe, haben darnach in einer vorläufigen Mitteilung [1]) die Ansicht ausgesprochen, daß die in der Sakégärung anwesenden Hefezellen mit dem Asp. oryzae nichts zu thun haben.

Um indessen über die in der letzten Zeit von Takamine, Juhler und Jörgensen gegebenen Mitteilungen [2]) von einer Hefebildung bei dem Asp. oryzae ein Urteil aussprechen zu können, ist es notwendig, den Vorschriften dieser Verff. genau zu folgen, und von diesem Gesichtspunkte aus haben wir auch unsere im Nachfolgenden beschriebenen Versuche gemacht.

Wie bekannt, gelangten Cohn und Büsgen vor einigen Jahren zu demselben Resultate wie Wehmer, Kosai und Yabe, nämlich daß Asp. oryzae nicht imstande ist, Hefezellen zu entwickeln [3]). Erst in der letzten Zeit ist die Frage wieder aufgekommen, nachdem ein Japaner, der obengenannte Dr. Takamine, den Asp. oryzae als Diastasebildner im Brennereibetriebe anzuwenden angefangen hat. Außer einer großen Reklame von Seiten der Kompagnie, die Inhaberin seiner Patente ist, wurden dann und wann einzelne Mitteilungen mehr oder weniger wissenschaftlichen Inhalts publiziert, und in einer solchen wird u. a. erwähnt, daß die Konidien des genannten Aspergillus unter Einfluß der diastatischen Wirkung, welche letzterer zu entfalten vermag, in Hefezellen umgebildet werden können und daß es dies ist, was u. a. während der Sakéfabrikation in Japan vor sich geht. In seinen Patenten sagt Takamine ferner, daß auch andere gewöhnliche Schimmelpilze imstande sind, Hefezellen zu entwickeln. Hiermit war wieder die alte Frage an der Tagesordnung. Takamine's Patente und Publikationen enthalten in der That nichts anderes als die rücksichtlich der Sakéfabrikation in früheren Zeiten oft ausgesprochenen und wieder zurückgewiesenen Mutmaßungen.

Kurze Zeit darnach besuchte Direktor Juhler Takamine in Peoria in Nord-Amerika, wo unterdessen eine „distillery" errichtet war, die nach den Takamine'schen Patenten arbeitete, und er sah hier Hefezellen mit dem Aspergillus zusammen. Mit einer Probe des angewandten Materials reiste er nach Dänemark in das gärungsphysiologische Laboratorium des Direktor Alfr. Jörgensen's, um die Frage genauer zu studieren. Er

1) G. Kosai und K. Yabe, Ueber die bei der Sakébereitung beteiligten Pilze. (Centralbl f. Bakt. u. Parasisenk. 2. Abt. Bd. I. 1895. No. 17. p. 609.)

2) Joh. J. Juhler, Umbildung eines Aspergillus in einen Saccharomyceten. (Ibid. No. 1. p. 16).

— — Ueber die Umbildung des Asp. oryzae in einen Saccharomyceten. (Ibid. No. 9/10. p. 326).

Alfr. Jörgensen, Der Ursprung der Weinhefen. (Ibid. No. 9/10. p. 321).

— — Ueber den Ursprung der Alkoholhefen. (Berichte d. gärungsphysiolog. Laboratoriums von Alfr. Jörgensen zu Kopenhagen. I. 1895).

3) Siehe die oben citierten Abhandlungen von Wehmer, in welchen überhaupt die Geschichte der Frage ausführlich behandelt ist.

gelangte zu demselben Resultate wie Takamine, daß die in der Flüssigkeit eingesenkten Konidien des Aspergillus unter der diastatischen Wirksamkeit desselben in Hefezellen umgebildet werden. In dieser Zeitschrift (l. c.) veröffentlichte Juhler seine Beobachtung, teils in einer vorläufigen Mitteilung, teils ausführlicher. An derselben Stelle teilt Jörgensen mit, daß er die Beobachtung Juhler's bestätigen kann. Weder Juhler noch Jörgensen gaben indessen einen Beweis rücksichtlich der Richtigkeit der Beobachtung, was aus dem Folgenden erhellt.

Jörgensen sagt, er habe die Bildung der Hefezellen in der feuchten Kammer beobachtet. Wie er seine Bestätigung mitteilt, sollte man glauben, daß das entscheidende Moment, nämlich die Umbildung der Konidien in Hefezellen, in einer feuchten Kammer zu beobachten sei. Jörgensen hat aber nicht das unternommen, was man gewöhnlich unter einer Untersuchung in einer feuchten Kammer versteht, wenn die Rede davon ist, eine wirkliche Bestätigung zu geben. Die lückenlose Beobachtung des ganzen Entwickelungs-Cyclus findet sich nicht.

Wenn Jörgensen in Tropfen flüssiger Reisstärke Konidien aussäte, keimten sie auf die gewöhnliche Weise, bildeten ein Mycelium und fruktifizierten. Die in der Luft entwickelten Konidien hatten die gewöhnliche Gestalt, aber „die in der Flüssigkeit eingesenkten zeigten nach und nach alle Uebergangsformen bis zu klaren, ellipsoidischen Zellen.“ Dies ist alles, was Jörgensen mitteilt, und von der Sprossung in der Kammer, das gerade das Entscheidende sein sollte, ist keine Rede.

Auch in den „Berichten des gärungsphysiologischen Laboratoriums von Alfr. Jörgensen“, I, wird Asp. oryzae und dessen vermeintliche Hefebildung erwähnt. Neu sind hier aber nur ein Paar Figuren, von welchen die eine Hefezellen mit Endosporen darstellt; die andere soll das illustrieren, was teils in der feuchten Kammer, teils in den Massenkulturen im Kolben beobachtet wurde. Man sieht hier zwei Figurengruppen, welche farbige und helle Konidien darstellen und eine dritte Gruppe, welche einige eingesenkte Konidien in Sprossung begriffen illustriert; in der Texterklärung der Abbildungen ist in einer Parenthese hinzugefügt, daß diese Sproßformen „im Kolben“ (also nicht in der feuchten Kammer) beobachtet wurden. Zu einem entscheidenden Beweise gehört aber eben die direkte Beobachtung von Hefebildung und Sprossung in der Kammer. Jörgensen giebt also keinen entwickelungsgeschichtlichen Beweis und man sieht keinen genetischen Zusammenhang zwischen den angegebenen Entwickelungsstufen.

Um Material für unsere Versuche zu bekommen, wandten wir uns zuerst an die Herren Juhler und Jörgensen; beide stellten aber die Auslieferung eines solchen in Abrede. Wir wandten uns deshalb anderswo hin und waren dann so glücklich, direkt von Dr. Takamine eine Portion „Taka-Koji“ zu erhalten, also ein aus derselben Quelle stammendes Material wie das von Juhler angewandte. Außerdem bekamen wir von Dr. Lafar in Hohenheim etwas von dem Materiale, welches Prof. Kellner aus Japan mit-

gebracht hatte. Ferner war das Carlsberg Laboratorium seit 10 Jahren im Besitze eines Asp. oryzae. Mit dem obengenannten Materiale, das in allen Fällen aus einer typischen Vegetation eines Asp. oryzae bestand, stellten wir unsere im Folgenden erwähnten Versuche an.

Wenn wir Konidien von Asp. oryzae in verflüssigtem Reis in einer feuchten Bötcher'schen Kammer aussäten, sahen wir dieselben auf gewöhnliche Weise keimen und Mycel und Konidien entwickeln. Von letzteren waren die in der Flüssigkeit selbst gebildeten hell und von runder oder ovaler Gestalt. Hefezellen oder Sprossung sahen wir aber niemals. Diese hellen, ovalen Konidien kann man aber in jedem Kolben mit Reis säen, wenn man nur dafür Sorge trägt, daß die Entwickelung in der Flüssigkeit selbst vor sich geht. Säten wir dann etwas von diesem Reis mit den genannten hellen, ovalen Konidien in einer gärungsfähigen Flüssigkeit aus, wie z. B. in Würze oder in Reis, der durch die diastatische Wirkung des Aspergillus in mehr oder minder verflüssigtem Zustande gebracht war, bekamen wir immer eine gewöhnliche Aspergillus-Vegetation, niemals aber Gärung oder Entwickelung von Hefezellen. Weder in der feuchten Kammer noch in den Kolben trat eine Sprossung oder Entwickelung von Hefezellen auf, selbst nach langem Stehenlassen nicht.

Gleichzeitig mit den obenerwähnten Versuchen stellten wir auch solche in den Kulturkolben selbst an, indem wir davon ausgingen, daß die Sache sich wirklich so verhalten mußte, wie von Takamine und Juhler angegeben. Die ersten Versuche wurden mit dem obengenannten Material von Asp. oryzae, das in dem Carlsberg Laboratorium seit längerer Zeit gewesen war, unternommen. Wir wurden nun ein wenig überrascht, denn es gelang uns niemals, in unseren Kulturen Hefezellen zu bekommen. Wir arbeiteten mit Reinkulturen und in mit sterilem Reis gefüllten Freudenreich-Kolben. Nach zahllosen Versuchen, welche, in der verschiedensten Weise variirt wurden, aber immer mit dem Zweck vor Auge: vor allen Dingen Diastasebildung, dann Einsenkung der Kulturen, daß die Konidienbildung in der Flüssigkeit selbst stattfinden konnte — versuchten wir verschiedene andere Nährsubstrate und nahmen dann ein anderes Material, indem wir der Ansicht waren, daß das bis jetzt benutzte vielleicht an dem negativen Resultat schuld sein möge. Wir wandten das oben erwähnte Material von Takamine und Kellner an. Aus dem von dem Erstgenannten empfangenen „Taka-Koji“ isolierten wir 6 Reinkulturen von Asp. oryzae und wiederholten die Versuche, sowohl mit diesen Reinkulturen als mit der von Kellner stammenden Kultur, und mit denselben Variationen in der Versuchsanordnung wie früher. Obgleich wir auf diese Weise Versuche zu Hunderten anstellten und oft eine starke Diastasewirkung bekamen, gelang es uns nicht ein einziges Mal Hefezellen zu erhalten, weder in den Kulturen auf Reis oder Weizenkleie, selbst nicht nach langem Stehenlassen, noch nachdem die Kulturen oder ein Teil derselben in Würze oder in eine andere gärungsfähige Flüssigkeit übergeführt waren. Dagegen war die

Bildung ovaler, wasserheller Konidien, wie die in der feuchten Kammer beobachteten, eine allgemeine Erscheinung.

Da also die Versuche mit den kleinen Maaßen kein positives Resultat gaben, stellten wir neue im Großen an. Für diesen Zweck brauchten wir große Bechergläser (bis zu 3250 ccm Rauminhalt) und große Kochflaschen (à 1500 ccm), teils mit Weizenkleie, teils mit einer Mischung aus Reis und Weizenkleie. Der Grund, weshalb wir mit dieser neuen Versuchsreihe anfingen, war, daß man sich denken könne, daß in solchen großen Kulturen andere Faktoren als in den kleinen Freudenreich-Kolben wirksam seien, nämlich solche, welche die Hefeentwickelung begünstigen. Wir arbeiteten nach den von Takamine und seiner Kompagnie mitgeteilten Vorschriften.

Im Anfange verwendeten wir das „Taka-Koji“ von Takamine in demselben unreinen Zustande, in welchem wir es empfangen hatten, und wir bekamen dann in unseren Kulturen typische Hefezellen aus den Gruppen Sacch. cerevisiae und Sacch. ellipsoideus. Leider bekamen wir aber gleichzeitig Entwickelung verschiedener anderer Organismen, z. B. Mucor, Bakterien und Sacch. anomalus in großer Menge. Durch Wiederholung der Versuche erhielten wir hauptsächlich dasselbe Resultat; bei der mikroskopischen Untersuchung fanden wir aber niemals etwas, das darauf deuten könnte, daß die Aspergillkonidien in irgend einer genetischen Verbindung mit den Hefezellen standen. Wir sahen zwar oft eine Konidie dicht einer Reihe Hefezellen anliegend; aber bei einem leichten Drucke auf die Deckgläschen zeigte es sich sofort, daß die Konidien nichts mit den Hefezellen zu thun hatten; sie lagen nur zufällig an denselben. Wir beobachteten niemals eine Umbildung der Konidien in Hefezellen und ebenso wenig eine Sprossung des Myceliums. Es blieb uns also nichts anderes übrig, als wieder Versuche im Großen zu machen, aber jetzt Reinkulturen anzuwenden.

Wir begegneten hier gleich einer Schwierigkeit mit dem Sterilisieren der großen Kleiemengen. Durch wiederholtes Kochen gelang es uns doch zuletzt. In zwei Versuchen aus zwölf traten Hefezellen auf, aber fremde Organismen waren wieder hier gleichzeitig anwesend, z. B. Bakterien, Mucor, Sacch. anomalus u. a., also ganz dasselbe wie früher. Auch in diesem Falle beobachteten wir keine genetische Verbindung zwischen den Konidien und den Hefezellen. Aus diesen Versuchen konnten wir also auch gar nichts schließen, und obgleich wir mit größter Genauigkeit die zwei Versuche, in welchen sich die Hefebildung eingefunden hatte, nachmachten, bekamen wir nichts desto weniger niemals Hefebildung, wenn wir mit Reinkulturen arbeiteten.

Wie oben mitgeteilt, waren wir im Anfange unserer Untersuchungen der Ansicht, daß Asp. oryzae imstande sei, Saccharomyceszellen zu entwickeln; deshalb waren wir eine zeitlang zu glauben geneigt, daß die Entwickelung, die wir zu entdecken hofften, entweder von einer Art Symbiose von seiten der fremden Organismen,

oder von einer Reizwirkung von chemischen Mitteln herrühren konnte. Von diesen Gesichtspunkten aus stellten wir neue Versuche an; letztere gaben aber auch nur ein negatives Resultat: die erwünschte Entwickelung von Hefezellen erschien nicht.

Unsere Untersuchungen haben also dargethan, daß die Gründe, welche bis jetzt für diejenige Auffassung, daß die Konidien des Asp. oryzae in Hefezellen umgebildet werden, vorgebracht wurden, unhaltbar sind.

Juhler und Jörgensen heben hervor, daß diejenigen von ihnen angestellten Versuche, welche darauf zielten, die Saccharomyceszellen zu einer Entwickelung von Schimmelpilzen zu bringen, in allen Fällen ohne positives Resultat blieben. Dasselbe war auch der Fall mit unseren Untersuchungen auf diesem Gebiete.

Während der Ausführung der im vorhergehenden besprochenen Versuche gelang es uns, eine Sclerotienbildung bei Asp. oryzae zu erhalten, eine Erscheinung, welche man bis dahin nicht beobachtet hatte.

Auch andere Aspergillusarten wurden in unsere Untersuchungen eingezogen; sie waren alle in größerem oder geringerem Grade imstande, eine diastatische Wirkung zu entfalten; keine derselben aber bildete Hefezellen.

Nachdem wir unsere obenstehenden Versuche abgeschlossen hatten, fingen wir mit Untersuchungen über Cladosporium und Dematium in derselben Richtung an; so weit wir mit diesen Versuchen zur Zeit gekommen sind, sind wir auch nicht imstande, auf diesem Gebiete die Richtigkeit von Jörgensen's Mitteilung bestätigen zu können.

Die Einzelheiten unserer Untersuchungen und Versuche werden wir später in dem „Compte rendu du Laboratoire de Carlsberg" mitteilen.

Carlsberg-Laboratorium, Kopenhagen, September 1895.

Ueber eine in Aspidiotus Nerii parasitisch lebende Apiculatushefe.

Von

Dr. Paul Lindner

in

Berlin.

Mit 9 Figuren.

In diesem Frühjahr beobachtete ich an einem Myrtenstrauch, den ich im Zimmer seit Jahren kultiviere, eine auffallende Veränderung in dem ganzen Aussehen und Verhalten. Während er früher stets einen reichlichen Ansatz frischer Triebe und ein saftiges Grün aufwies, blieben erstere beinahe ganz aus oder entwickelten sich nur

kümmerlich. Der Blattfall nahm bedeutend zu und die sitzengebliebenen Blätter wurden unansehnlich, trocken. Eine sorgfältigere Untersuchung ließ mich bald die Urheber der Krankheit auffinden: es waren Schildläuse, welche sowohl auf der Rinde der Aeste, als auf den Blättern sich angesiedelt hatten. (Fig. 1.) Ihre Anwesenheit war hauptsächlich wegen der täuschenden Aehnlichkeit mit kleinen Rindenschuppen oder knötchenartigen Astanschwellungen bisher unbemerkt geblieben. Letztere ist oft so groß, daß man selbst bei eifrigstem Absuchen eines Zweiges immer noch eine Anzahl der Parasiten übersehen kann. Mitunter war mir schon aufgefallen, daß auf den Blättern kleine glänzende Tröpfchen vorhanden waren, obschon von den gewöhnlichen Blattläusen, von denen ja allgemein bekannt ist, daß sie aus den Honigröhren am Hinterteile ihres Leibes einen süßen Saft ausspritzen, nichts zu sehen war. Eine mikroskopische Untersuchung der Schildläuse ergab dann auch das Vorhandensein ähnlich gebauter Organe von allerdings geringerer Größe. Das Interesse an diesen Organismen wäre bei mir wohl verflogen, hätte ich nicht die Wahrnehmung gemacht, daß in der kurzen Zeit von einigen Wochen, die seit der gründlichen Razzia verflossen, der Stock wieder dicht damit besät war. Wie war das möglich gewesen? Geflügelter Exemplare war ich nie ansichtig geworden; aus der Luft konnte also wohl schwerlich der neue Zuwachs hergekommen sein.

Hier gab wieder das Mikroskop Auskunft. Schon bei schwacher Vergrößerung ließ sich erkennen, daß oft bis hundert und noch mehr Eier innerhalb eines größeren schildförmigen Mutterkörpers lagerten und daß die aus einzelnen Eiern bereits ausgeschlüpften jungen Schildläuse im Gegensatz zu der festsitzenden Mutter eine außerordentliche Beweglichkeit besaßen. Die jungen Schildläuse suchen nun die benachbarten Blätter oder Zweige auf und bohren sich sogleich wieder mit ihrem Schnabel und Stechborsten in die Epidermis ein; besonders bevorzugen sie die Nähe der Gefäße. An der Mittelrippe der Blätter habe ich oft 4—5 kleine Läuse hinter einander sich festsetzen sehen. In der ersten Periode ihres seßhaften Daseins wachsen sie zu breiten, dünnen Schüppchen heran, die erst zur Zeit der Fortpflanzung dick anschwellen, wobei die äußere Haut sich zumeist etwas färbt und oft eine rippenförmige Zeichnung erkennen läßt. Die Bauchseite ist mit ihren Rändern an das Blatt angesaugt. Zur Zeit der Reife färbt sie sich an den Stellen, an welchen die Jungen hervorbrechen, braun; die 3 Beinpaare bleiben bis zuletzt erhalten. Wenn man ein kräftigeres Exemplar vorsichtig von einem Blatte abgehoben hat und nun mit dem Rücken auf den Objektträger legt, dann sieht man außer den zuckenden Beinpaaren auch einen längeren dünnen braunen Faden, der aus dem dreieckigen Schnabel herausgetreten ist. (Fig. 2.) Es ist dies eine Stech- und gleichzeitig auch Saugborste, die ursprünglich in Form einer langen Schleife unter der Haut zusammengelegt war. (Fig. 5.)

Sind bereits junge Schildläuse ausgekrochen, dann sieht man auch eine große Anzahl weißer Fetzen verstreut liegen: die abgeworfenen Eihäute. Während die Gestalt und Größe der älteren Schildläuse je nach dem Saftreichtum der angebohrten Stelle sehr

wechselt, sind die jungen Schildläuse einander alle völlig gleich. In den Fig. 4 und 5 sehen wir eine solche von der Rücken- und eine von der Bauchseite.

Ueber den Bau der Honigröhren und des Afters giebt noch Fig. 7 Aufschluß. Der After ist vorstülpbar und mit 6 Stacheln bewaffnet, die beim Einstülpen ebenfalls mit zurückgezogen werden, so daß nur die Spitzen hervorragen.

Beim Zerdrücken einer größeren Schildlaus zwischen Deckgläschen und Objektträger fiel mir auf, daß zwischen den zahlreichen Fettkügelchen und inmitten der plasmatischen Grundsubstanz zahllose Zellen einer sprossenden Hefe lagen, die ihrer Form nach mit dem Sacch. apiculatus in eine Gruppe gestellt werden muß. Die spitzen Ausläufer der Zellen sind meist sehr lang, wodurch schon ein Unterschied von den bereits bekannten Arten dieser Gattung gegeben ist. Da die Schildläuse Pflanzensäfte aufsaugen und Zuckerlösungen ausspritzen, erschien die Gegenwart einer Hefe nicht wunderbar. Ich hielt es auch für selbstverständlich, daß diese in Zuckerlösungen zu wachsen vermag. Dem war aber nicht so. Die Hefe hat bisher in keiner Nährlösung oder Nährgelatine zur Vermehrung gebracht werden können, weder in gehopfter und ungehopfter Würze, Fleischextraktlösung, Saft aus der Weinbeere, Hühnereiweiß, Würze- und Fleischsaftgelatine, noch in Myrtenblattabkochung, noch in Dextrosehefemassen. Ob die Kultur bei Luftabschluß oder ärob geführt wurde — das Resultat war immer ein sofortiges Schrumpfen und Absterben der Zellen.

Wir haben es also mit einem obligaten Parasiten zu thun.

Nun galt es der Beantwortung der Frage, wo der eigentliche Entwickelungsherd dieser Hefe in der Schildlaus sei. Ich begann zunächst damit, daß ich einzelne umherlaufende kleine Schildläuse in je einen größeren Wassertropfen brachte und dann mit dem Deckgläschen zerdrückte. Da fand sich nun bisher in jeder jungen Laus eine große Anzahl Zellen der erwähnten Hefe. Nun mußte noch weiter zurückgegangen werden bis auf die Eier, die noch in den Eierstöcken lagen. Letztere sind in ausgewachsenen kräftigen Schildläusen außerordentlich mächtig entwickelt; sie bilden traubenförmige Massen, die hunderte von Eiern einschließen können. Die Eier sind außerordentlich reich an Fett, das in Gestalt zahlreicher stark lichtbrechender Kügelchen die Hauptmasse bildet. Viele Eier zeigen noch keine Furchung. Auch in solchen konnte schon die Gegenwart unserer Hefe festgestellt werden; zwar nicht immer, aber doch in der überwiegenden Mehrzahl. Die Infektion setzt also bereits im frühesten Entwickelungsstadium ein. In welcher Weise sie vor sich geht, das kann nicht direkt beobachtet werden, da dieser Vorgang sich in einer den stärkeren Vergrößerungen des Mikroskops unzugänglichen Stelle der Schildlausleiber abspielt. Aber die Gestalt der Zellen, mit ihren außerordentlich spitz auslaufenden Enden, an denen der neue Sproß ansetzt, macht die Deutung nicht schwer. Offenbar spießt sich das spitze Ende durch die Eihäute hindurch und gliedert innerhalb des Eies die junge Tochterzelle ab. Diese sproßt von Neuem aus und siedelt sich zumeist an einem der Pole des Eies

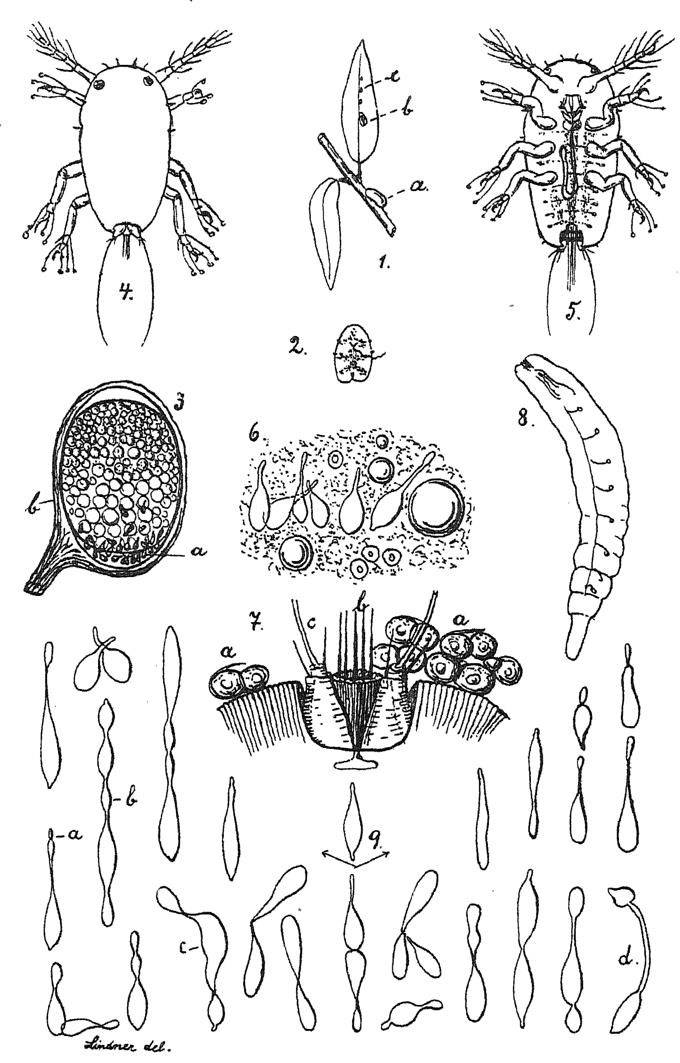


Fig. 1. *a* eine ältere, *b* und *c* jüngere Schildläuse, auf einem Aste resp. den Blättern der Myrte festsitzend. Natürliche Größe.

Fig. 2. Aeltere Schildlaus 4 fach vergrößert. Die rippenförmige Zeichnung des gewölbten Schildes und der auf der Unterseite befindliche spitze Schnabel mit der vorgestülpten Stech- und Saugborste angedeutet.

Fig. 3. Ei, noch in der Hülle (*b*) des Ovariums liegend. 100 fach. Am unteren Pole reichliche Wucherung der Apiculatushefe. (*a*).

Fig. 4 und 5. Junge, eben ausgeschlüpfte Schildläuse von der Rücken- und Bauchseite. In 5 ist die schlingenförmig eingezogene Saugborste zu sehen. 100 fach.

Fig. 6. Das Plasma einer zerdrückten Schildlaus mit Apiculatuszellen. 1000 fach.

Fig. 7. After und Honigröhren einer jungen Schildlaus. Zahlreiche Pilzsporen haben sich hier angesiedelt. 650 fach.

Fig. 8. Larve eines noch unbekannten Parasiten.

Fig. 9. Verschiedene Wuchsformen der Apiculatushefe. 1000 fach. *a* Anlegung einer jungen spitzen Tochterzelle. *b* Sproßverband. *c* Unregelmäßige Zellform, *d* Hantelförmige Zellen.

wie in Fig. 3 in größerer Menge an. Die Mutterzelle kann wohl kaum mit ihrem dickeren Teile die Eihaut durchbohren, deshalb wird sie jedenfalls außerhalb derselben verbleiben müssen.

Ueber die Morphologie der parasitischen Apiculatushefe ist nicht viel zu sagen. Da die Zellen in künstlichen Nährsubstraten nicht zum Auswachsen zu bringen sind, ist der Entwicklungsgang nur durch Vergleichung der sich gerade vorfindenden Wuchsformen abzuleiten. Die Zeichnungen in Fig. 9 bieten dazu reichlich Gelegenheit. Die häufigste Form der Zellen zeigt uns Fig. 6; Fig. 9 enthält eine Anzahl auch seltenerer Formen.

Bei dem Zerreißen einer größeren Anzahl besonders dicker Schildlausleiber konnte mehrfach die Anwesenheit eines zweiten Parasiten der Schildlaus festgestellt werden. Es sind bis 2 mm lange, weiße, wurmförmige Gebilde, ähnlich den Fliegenmaden, nur sehr viel kleiner (Fig. 8). In einzelnen fortgeschrittenen Individuen konnte auch schon die Anlage dunkelgefärbter, facettierter Augen, sowie flügelartiger Ansätze wahrgenommen werden. In einer Schildlaus wurden sogar 6 Exemplare dieses Parasiten vorgefunden. Der Versuch, durch höhere Temperatur bei gleichzeitiger Feuchtigkeit ein Ausschlüpfen der mutmaßlichen Fliege herbeizuführen, schlug fehl, da die Schildläuse infolge Schimmelpilzansatzes zu Grunde gingen. Daß Fliegen sich gern in den Zweigen der Myrte aufhalten, um den ausgespritzten Saft der Schildlaus aufzusaugen, habe ich öfter beobachtet; ein Ablegen der Eier unter die Schildlaus jedoch nie. Auch der Saft der gewöhnlichen grünen Blattläuse lockt die Fliegen stark an. Im Laboratorium der Versuchsbrauerei waren zwei Baumwollpflänzchen in Töpfen kultiviert worden; die großen Blätter, die reichlich mit Blattläusen sich bevölkert hatten, wurden beständig von den Fliegen aufgesucht. Mit dem Saugrüssel der Fliege werden jedenfalls auch eine Menge Pilzkeime auf die klebrige Stelle des Blattes übertragen, die bei Gegenwart genügender Feuchtigkeit sich hier kräftig entwickeln können. In Fig. 7 sehen wir einen größeren Sporenhaufen in der unmittelbaren Nähe der Honigröhren einer kleineren Schildlaus die in einer feuchten Kammer gehalten worden war. Beim Zerquetschen der Schildläuse und Vermischen mit Würgegelatine sah ich wiederholt reichlich Dematiumkolonieen, rote Hefen und verschiedene Schimmelpilze sich entwickeln. Den Weg in das Innere der Schildlaus, wenigstens einer älteren, finden diese Organismen jedenfalls durch die Oeffnungen, welche die junge Brut beim Auskriechen in die Haut der Mutter gerissen hat. Manche Schimmelpilze mögen wohl auch überall in die Leibeshaut eindringen können. Die Fäden dringen dann bis zu den einzelnen Eizellen vor und wuchern darin bedeutend.

Ob auch die Maden, welche die befallene Schildlaus fast ganz ausfressen, die Apiculatushefe in sich tragen, außer im Darmkanal, der davon wimmelt, vermochte ich nicht mit Sicherheit festzustellen. In den durch Druck auf das Deckgläschen erhaltenen Exkrementen zeigten die Hefen noch ein völlig gesundes, kräftiges Aussehen.

Im Laufe des Sommers habe ich, soweit sich mir Gelegenheit

dazu bot, auch andere Rinden- und Blattläuse untersucht: so die gewöhnlichen grünen Blattläuse, die an Rüstern so häufige Blutlaus, ferner eine an Heidelbeersträuchern sitzende Rindenlaus. Nirgends habe ich ein ähnliches parasitisches Verhältnis nachweisen können. Was die Schildlaus der Myrte angeht, so ist dieselbe auch vereinzelt auf einem Oleander und einem Gummibaum, der in der Nähe der Myrte stand, beobachtet worden. Die Myrte bot jedenfalls ungleich bessere Lebensbedingungen für den Organismus dar. Ob die Schildlaus von der Hefe einen Nutzen hat, diese Frage muß vorläufig noch eine offene bleiben. Jedenfalls scheint sie nicht schädlich zu wirken, denn auch in den kräftigsten Schildlausexemplaren war die Hefe besonders zahlreich vertreten.

Ich halte es für zweckmäßig, der Hefe die Bezeichnung Saccharomyces apiculatus var. parasiticus zu geben.

Ueber die Natur des zweiten in der Schildlaus gefundenen Organismus hoffe ich später noch Aufschlüsse geben zu können.

Zum Schluß sei noch daran erinnert, daß wir in der Monospora cuspidata Metschnikoff zuerst einen hefeartigen Organismus kennen gelernt haben, der im tierischen Körper, in dem kleinen Daphniakrebs, zu wuchern vermag. Die Arbeiten von Lydia Rabinowitsch über pathogene Hefen haben ferner dargethan, daß eine größere Anzahl (7) Hefen im Blut von Meerschweinchen, Kaninchen u. s. w. sich vermehren und weiterhin tödlich wirken können.

Sanfelice, Busse, Roncali, Corselli und Frisco haben gezeigt, daß auch in bösartigen Geschwülsten häufig Blastomyceten vorkommen und als Krankheitserreger anzusehen sind.

Berlin, im November 1895.
Laboratorium der Versuchsbrauerei.

Nachschrift. Während des Druckes der vorstehenden Abhandlung habe ich bezüglich des zweiten Parasiten noch folgende Aufschlüsse erhalten: Bei einer größeren Anzahl älterer Schildläuse fand ich das Schild durchbohrt und den Parasiten ausgeschlüpft. Wenn ich mit den Händen die Zweige der Myrte auseinander bog, dann fanden sich zuweilen 2—5 mm lange, schwarze, fliegenähnliche Insekten ein. Die Flügel derselben zeigten fast gar keine Aderung; dagegen waren sie gleichmäßig behaart (genau so wie bei Eulophus Xanthopus). Es handelt sich offenbar um eine Schlupfwespe, nicht um eine Fliege. Von einem Saugrüssel war nichts zu sehen. Auf dem Kepfe waren zwei stattliche 14-gliederige Fühler vorhanden. Eine genauere Bestimmung des Insektes war mir bisher nicht möglich.

Cheese curd inflation: Its relation to the bacterial flora of fore milk[1]).

By

H. L. Bolley and C. M. Hall[2])

in

Fargo, North Dakota, U. S. A. (Experiment Station).

With 8 figures.

It is at this time, scarce necessary to make mention of the varied effects, beneficial and detrimental, induced by the bacteria and fungi upon a cheese product during its different stages of manufactury. In general these effects are recognized as being of economic importance, but a few years since, scarce imaginable. Aside from its body substance of casein and fat, cheese, it is well understood, owes its value to fermentations and decompositions, occasioned by micro-organisms. The quality of such products, as to kinds produced, has been fixed through methods based upon biological conditions, now known to have been necessary.

To date the flora of cheese manufactury has been essentially accidental, except perhaps, it be admitted as otherwise, in the establishment of certain biological conditions which must obtain in the proper making of special types, such as Emmenthal and Roquefort. Pure culture cheeses are, as yet, matters of experimentation[3]) Fermentations and decompositions are thus accidental, and with the possible exception of a few which are pronouncedly efficacious in good or evil effects, one cannot be certain as to the valuation to be placed upon individual results.

Of these modifications and changes gas formation in the curd during its manipulation and subsequent ripening is peculiarly active and worthy of close investigation. Certain it is, that, in the factory, it is an efficacious originator of troubles. However it may not be said that Emmenthaler would have its present value without the holes (Löchern). But gas formation in cheese is not specific[4]) i. e. due to the action of a specific organism; hence one may properly as has been indicated by Adametz[5]), group these gas generators into normal and abnormal cheese types, i. e. good and evil originating

1) Read before the general session of the association of American Agricultural colleges and Experiment Stations, ninth annual convention, Denver, Colorado, July 18th, 1895.

2) Paper, preliminary investigations and direction of the work by H. L. Bolley, ecfinal cultural tests upon fore milk by C. M. Hall.

3) Upon these points see general literature of the subject by Adametz, Baumann, Duclaux, Freudenreich, Weigmann and others.

4) This is substantiated by these investigations. Also see Adametz resume „Ueber die Ursachen und die Erreger der abnormalen Reifungsvorgänge beim Käse — Das „Blähn" oder „Gären" der Käse" — Milchzeitung 1893, Nos. 12, 14 and 15.

5) Loc. cit. Citation No. 4.

forms. It is also possible that some of these, while troublesome in the time of the curd manipulations, may be found of extreme value in the sum total of the cheese process. If so, it becomes but the more certain a matter of scientific factory processes based upon studies into methods of control. At best, it may be said, that there are some types of gas formation which under present methods are very detrimental and costly in effects occasioned — the active curd conditions being variously designated as „Käseblähung“[1]. "Le poursouflement des fromages"[2]) „Lochbildung und Blähung der Käse“[3]) "floating curd" and "pin-hole curd formation"[4]). Adametz[5]) has estimated that the Swiss manufacturers of Emmenthaler alone, sacrifice annually millions of franks to these curd troubles. To appreciate their losses one has but to visit manufacturers of hard cheeses in this country, observing similar troubles in resulting in "floating curds", cheese inflation during the green period, and often in ruptured, distorted and tainted final products.

Through the kindness of Dr. H. L. Russell and of Director Henry of the University of Wisconsin Experiment Station, I was enabled during the months of July and August of 1894 to aid in some investigations of these matters under the bountiful facilities of laboratories, dairy and factory there afforded[6]).

Cheese Curd inflation, a Biological Phenomena: Though as early as 1890, Weigmann[7]) and Freudenreich[8]) had called attention to the fact they had discovered a few individual species of pathogenic bacteria which by attacking the milk sugar give rise to gas formation which results in „Blähung der Käse“, their conclusions had not been accepted as general. Indeed, even yet, some of our chemists may have a lurking suspicion that the origin of "pin-hole" formation has its inception in peculiarities inherent in the milk, and that, the trouble may be incident to the methods of curd manipulation. Experienced cheese makers have quite generally affirmed that its chief origin is "dirty milk". The work upon which this paper is based reaffirms this belief. In the factories curd inflation seems everywhere general. It is only a matter of degree from curds but slightly if at

---

1) Adametz, loc. cit.

2) Freudenreich, Annals de micrographie. t. II. 1890. p. 553. cited from Koch's Jahrb. 1891, S. 95.

3) Weigmann (im Landwirtschaftlichen Wochenblatt für Schleswig-Holstein, 1890 No. 37.)

4) Russell in outlines of Dairy Bacterioiogy, pp. 39—41.

5) Milchzeitung, 1893, No. 12, S. 187.

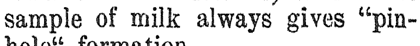
6) Assisting Dr. Russell the facts accumulated there belong rightfully within his publications of continuous investigations. My thanks are here due to his guidance and introductions to this interesting field of work. I hope however, at this time, to use only such parts of the work as directly connect with the later work of myself and Mr. Hall.

7) Ueber die Lochbildung und Blähung der Käse (Milchzeitung, Bd. XIX, 1890, S. 741.

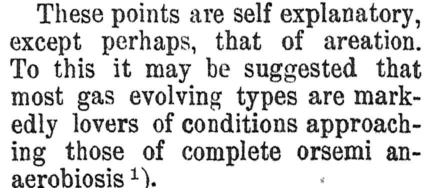
8) Ueber einen neuen in geblähtem Käse gefundenen Bacillus (Bacillus Schaferi). Landwirtschaftliches Jahrbuch. Bd. IV. 1890. S. 17 and "Sur quelques bacteries produisant le boursouflement des fromages" (Ann. de Micrographie II, 1890. p. 553) cited from Koch's Jahrb.

all injured by the presence of minute, evenly distributed gas openings, to types quite troublesome to valueless because of toughened, tainted, inflated and distorted conditions.

General facts suggestive of a biological origin of the trouble may be given as follows: 1) It is certain to occur in milk known to contain much dust and dirt of a stable type. 2) It is most damaging in results from over-ripened milk. 3) Areation of milk is beneficial and may at times even prevent its occurrence. 4) The conditions of curd manipulation are particularly favorable to bacterial growth, and the evolution of gas is always most rapid as the temperature approaches the optimum for such growth. 5) Heavy growths of bacteria always line the cavities of curd and cheese holes. 6) The same sample of milk always gives "pin-hole" formation.



These points are self explanatory, except perhaps, that of areation. To this it may be suggested that most gas evolving types are markedly lovers of conditions approaching those of complete orsemi anaerobiosis [1]).



Working upon the assumption of a biological origin of the troubles, numerous experiments, the details of which do not properly fall within the province of this article, but which were inclusive of bacteriological exclusiveness demonstrated that solid curds could be made from the worst types of "pin-hole" forming milk provided the original bacteriological flora was eliminated. Drawings No. 1 and 2 of plate 1 show cross sectional views of two experimental. curds. — No. 1 from full mixed milk untreated, No. 2 from the same properly treated. Cut. No. 3 represents a similar view of curd made from a treated milk similar to that of No. 2 afterwards reinfected with a gas forming organism No. 28a. Perhaps the best proof of the biological nature, aside from the results just given, rests in the fact that when anticeptic methods were resorted to "pin-hole" formation was checked in direct proportion to the value of the bactericide used [2]).

1) This is substantiated by the characteristics of the species here studied. See also: Fraenkel, Text book of Bacteriologie. — Eng. Ed. pp. 24, 115, 217, 222 and 334. Also Beyerinck „Zur Ernährungs-Physiologie des Kahmpilzes." — Centralbl. für Bacteriologie und Parasitenkunde. Bd. XI. S. 68. Pasteur (Studies on Fermentation Faulkner and Robb. Eng. Ed. p. 269.)

2) This work has been duplicated at Fargo; and I am also informed by Dr. Russell that the results of the same type of work carried into tests upon full sized

Having thus become satisfied as to the cause and that rapid tests of individual samples of milk were possible, the economic question of germ sources was open to consideration, and the important results bearing upon the exclusion of milk furnished by untidy patrons came into view. It was found that such tests could be made and were reliable for an individual sample; but here there is a halt. Creameries and factories and accessories thereto are found to be generally infested by miscellaneous micro-organisms and the gas generating types are no exception.

While at Madison I separated and have made careful cultural studies of six distinct forms of the latter, from one vat of mixed milk. One Oospora-like fungous, three bacillus and two micro-coccus types. All of these were quite constantly present in the factory, and at different times were taken from various different locations, as from separator slime, milk in the vats, separated milk, milk from the cows of special patrons, from the whey in the gas cavities of green curds and one, a spore from No. 36 c from pasteurized cream [1]).

We may thus in consideration of these facts, together with the notations of the comparatively large number of separate species described by the European workers, Weigmann [2]), Adametz [3]), Freudenreich [4]), MacFadyden [5]) and Baumann [6]), as being capable of curd inflation, assume that these troubles are generally distributed and due to a miscellaneous number of specifically different organisms.

The fore milk as a possible source of factory infection.

Knowledge of the sources of these troublesome organisms thus becomes of first importance. Aside from actual filth, the fore milk has been shown to be a source of abundant bacterial infection. As has been stated by Russell [7]) under conditions of cleanliness in milking, this is probably, the predominant source of germ content. Lehmann [8]) estimated for first milk drawn 50,000 to 100,000 per cubic centimeter and Schultz [9]) found a content ranging in separate tests from 55,566 to 99,600 per cubic centimeter. If then it be found that the normal udder is but a well regulated incubator for such organisms, relief seems somewhat more distant than a mere demand for common cleanliness in the stable.

---

cheeses, made at Madison at the time of the above described tests, have confirmed the more limited trial tests.

1) These organisms will receive special consideration in a following paper.

2) Loc. cit. No. 8.

3) Loc. cit. No. 3.

4) Landw. Jahrb. Bd. IV. 1890. p. 17 u. Ann. de Micrographie. loc. cit.

5) Landw. Jahrb. d. Schw. 1890, S. 64.

6) Landw. Vers.-Stat. 42, S. 214.

7) Outlines of Dairy Bacteriology 1894, p. 40.

8) Grotenfelt principles of Modern Dairy Practice. Woll's Eng. Ed. p. 24.

9) Ueber den Schmutzgehalt der Würzburger Marktmilch und die Herkunft der Milchbakterien (Archiv f. Hygiene Bd. XIV, 1889, S. 260). Cited from Koch's Jahrb. 1892, S. 176.

The following points are given as indicating that the fore milk is not above suspicion: 1) Germs are nearly always present in the first milk drawn. 2) Gas forming types heretofore studied are of such nature as to be associated with stable filth. Adametz[1]) has also listed sixteen similar organisms, inclusing yeasts and bacteria of general decomposition. 3) Under stable conditions there are also apt to be forms capable of growth at the body temperature. Of such Adametz's resume lists ten species of pathogens shown to be capable of „Käse-Blähung" by various investigators. These include such forms as Bacillus coli commune, Escherisch, and the various urine loving micrococci. 4) The milk moistened openings of the teats come easily and often in contact with such germ bearing matters of the stable and animal body. 5) Gas producing bacteria seem inclined to anaerobiosis ant it seems possible that conditions approaching these demands exist in the normal udder. 6) Contrary also to the considerations of Adametz[2]). I find that some forms markedly of the lactic acid type may be marked originators of curd inflations.

Under these considerations it seems that fore milk might be concerned in cheese curd inflation from a broader basis of kinds than that represented by infections due only to such disease producing types as Bacillus Guillebeau of Freudenreich[3]), or Bacillus lactisaerogenes and Micrococcus mastitis of Adametz[4]).

Gross tests of fore-milk.

Preliminary cheese-curd, and fermentation tube tests: This study was made upon two cows, at Madison, Wisc. At the time Aug. 28th the animals were under the continuous pasture conditions and bodily very cleanly. The cheese curd tests were each made under same conditions after allowing the milk to stand for twelve hours at 18 degrees centegrade. The fermentation tube tests were made by infecting same with 1/30 c. c. of the milk immediately following the milk taking.

Test No. 1. Full milk of short horn cow, bottled, direct from sterile milking pail, without other precautions than exclusion of the fore-milk. Result heavy gas inflation, curd a leathery "floater" (see figure 4). In the fermentation tube, heavy gas formation, culture practically exhausted in the first twelve hours.

No. 2. Strippings from Shorthorn cow, taken with following precautions: flank, belly and udder of animal washed and dried with moist cloth, and the hands of the milker likewise treated; and the milk stripped direct into sterile bottle. Results a very few large "pin-holes" in a solid non-floating curd; no gas formation in fermentation tube after forty-eight hours (see figure 5).

No. 3. Fore-milk from all the teats of a Jersey cow "Bessie" all precautions observed as in No. 2. Results as in No. 2 (see figure 6).

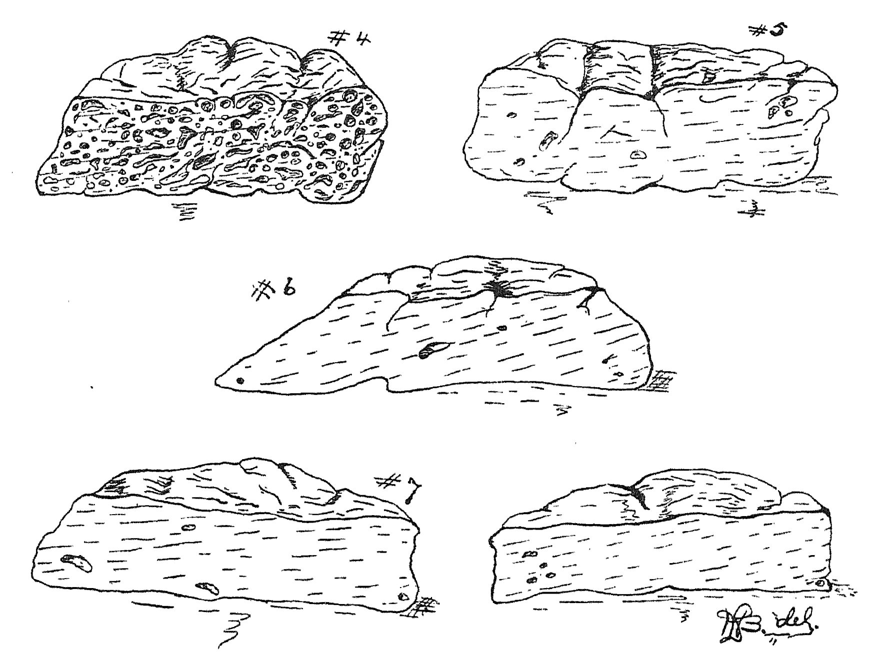
---

1) Loc. cit. No. 3. No. 15, p. 240.
2) Loc. cit. No. 12, p. 188.
3) Ann. de Microg. loc. cit.
4) Adametz, loc. cit. No. 15, S. 237, 238.

No. 4. Strippings from "Bessie", all precautions observed. Results as in last. A solid curd with a few "pin-holes". Fermentation test began slight evolutions of gas after twenty-four hour (see figure 7).

No. 5. Fore-milk from short horn cow, no special precautions, save only that the milk was drawn direct into a sterile bottle in such manner that but slight dirt might fall into the neck of the bottle. Results: a good curd like that of 2, 3 and 4 (see figure 8). The fermentation test gave a slow evolution of gas after twenty-four hours.

This work was duplicated Oct. 10th at Fargo upon two cows with essentially like results, the general full milk at the time giving a bad type of floating curd. The evidence from these tests is that the gas originating organisms were not located in the udders either



in the fore or last milk, and that the few "pin-holes" of curds 2, 3, 4 and 5 must have had an external origin. This is made more evident by the results from the general milk of No. 1, though it was taken under conditions of more than ordinary neatness.

Qualitative Determination of the Bacterial Flora in the Normal Udder[1]).

To the above described results a qualitative investigation must give much added weight. To this end, such facts of Mr. Hall's studies as bear directly upon the question are here given.

1) Work done by Mr. Hall, Senior Student at the Agricultural College, Fargo, N. D. In so far as I am aware this is essentially new work.

The examinations were made upon ten healthy cows living under cleanly stable conditions during the period between the dates of January 22nd and April 25th. The method was kept uniform, twenty cubic centimeters each of fore and last milk were drawn from same single teat and subjected to Petri plate culture analysis upon neutral gelatine at room temperature. The milk was always drawn through a sterile silver milk tube into a sterile narrow necked ounce bottle. The milk tube was always extended completely into the milk cistern, after first excluding a few drops of milk.

Results. 1) From thirty different examinations of fore and hind milk made upon nine different dates, sixteen dictinct species of bacteria were isolated. a) Of these, five were found only in fore milk, four of them occurring only once each in separate samples. b) Six occurred only once each in separate samples of last drawn. c) Five were found common to both fore milk and last milk. d) One of the last named lot, No. 30, was found common to the fore and last drawn milk of five different cows upon five different dates. e) Species No. 20 was twice found in the fore milk of cow No. 27, dates Jan. 22 and Jan. 20th.

No. 28 Occurred in the last milk of cow No. 25, Jan. 23d and in her fore milk on date of April 25th.

No. 84 was found in the fore milk of cow No. 24 Feb. 15th and again common to fore and hind milk, April 25th.

No. 72 Occurred in fore milk of cow No. 20, and was also common to fore and last milk of cow No. 21 upon date of March 29th.

No. 30, the most common species occurred in udder of cow No. 25 upon Jan. 22nd and April 25th. In the case of cow No. 27 it was present on dates of Jan. 22nd and Jan. 29th [1]).

2) Five species, Nos. 20, 23, 25, 28 and 65 are gellatine liquidfiers-eleven are solid forms.

3) Seven species are facultative anaerobes, nine seem to prefer aerobic conditions.

4) Three species, 66, 83, and 75, fail to vegetate at a constant temperature of 35 degrees cent. Thirteen develope rapidly at that temperature.

5) Twelve species produce an acid reaction in milk, three are alkaline curdlers and one, No. 30 leaves milk apparently unchanged.

6) Twelve are actively motile, four non-motile.

7) Only two samples of sterile milk were drawn, one from cow No. 24, April 15th and one from cow No. 26, April 19th, but samples of last milk containing only No. 30 remained unchanged.

8) The greatest number of species present in one examination was four, most often two, but at times only one.

9) Only bacteria were ever found.

10) No gas engendering organisms were found.

This work is perhaps too limited in the number of cows investigated, and in the number of duplicate cultures made from same

1) Cows No. 24, 25 and 27 are the only ones upon which tests were made upon different dates.

animals to assert any conclusions as to constancy of species or of physiological types present in fore-milk. The work, however, is given as a preliminary study, and may be said to indicate; 1) No bacterial flora common to the animals investigated, save one peculiar non milk effecting species, No. 30. 2) That a given form when once present may be quite constant in its occupancy of the udder of an individual animal.

Finally the absence of gas producing organisms remain unexplained, but adds significance to the previously described curd tests. It may yet be found that these results may not hold good even at Fargo; for it is a possibility, though I think hardly probable that, during the period covered by Mr. Hall's investigations, the months of January, February, March and April, the stables may have been free of gas generating organisms. They were there, however, by my own observation during the months of October and November as per the evidence of cheese courd tests made from full mixed milk.

If later and scattered investigations confirm this absence of gas producing organisms in normal fore-milk, the economic importance of the matter becomes self-evident.

Agricultural Experiment Station.
Fargo, North Dakota, June 20th, 1895.

Ueber die Konstanz von Bakterienarten in normaler Roh- (fore) Milch[1].

Zweite Abteilung.

Von

Prof. H. L. Bolley

in

Fargo, N. Dakota.

Es ist anerkannt, daß, abgesehen von eigentlichem Schmutz, wie z. B. Abgefallenes von den Händen des Melkers, Schmutz von seinen Kleidern und Haare und Kot von Seiten des Tieres, die Rohmilch die reichlichste Quelle der Bakterienflora der Milch ausmacht. Schultz und andere haben sie bei qualitativen Bestimmungen zu 50 und 100 000 im ccm angegeben. Da der Charakter des Gehaltes an Keimen zu einem so wichtigen Gegenstande bei ökonomischen Arbeiten mit Milch und ihren Produkten wird, so ist es klar, daß eine Untersuchung des Typus der im normalen Euter gegenwärtigen Keime frühzeitig die Aufmerksamkeit sich mit Bakteriologie beschäftigender Milchwirtschafter erregen mußte.

Die Frage ist natürlicher Weise von solcher Ausdehnung, daß

---

[1]) Vortrag vor der botanischen Sektion der amerikanischen Akademie zur Förderung der Wissenschaft bei der Versammlung zu Springfield, am 31. August 1805.

man sich ihr von verschiedenen Seiten zu nähern suchen muß, wie z. B. das Studium über das Vorhandensein oder das Fehlen physiologischer Gruppen, die Beständigkeit bestimmter Arten u. s. w. Während des soeben verflossenen Jahres sind zwei solcher Punkte untersucht worden. Der erste Punkt war ein Gegenstand von allgemeinem Interesse, und verfolgte zugleich den direkten Zweck, die Beziehung normaler Rohmilch zu der Quarkblähung (curd-inflation) bei der Käsebereitung zu bestimmen. Ueber die Resultate der Untersuchung ist zum Teil in einer Arbeit berichtet worden, welche in der allgemeinen Sektion der amerikanischen Vereinigung für Ackerbauschulen und Versuchsstationen vorgelesen wurde. (Am 19. Juli 1895.) Es wurde darin gezeigt, daß, soweit die Untersuchungen reichten, Gas erzeugende Arten, welchen man die Bildung von nadelkopfgroßen Löchern (pinhole formation) oder Käseblähung zuschreibt, in der Rohmilch des gesunden Euters normaler Weise nicht vorhanden sind.

Diese Folgerung gründete sich auf vorläufige Untersuchungen von Käsequark, welche zu Madison, Wis, im August 1894 angestellt und in Fargo im Oktober wiederholt worden waren, und endlich auf qualitative Analysen, welche während dreier Wintermonate an 10 dazu benutzten Milchkühen ausgeführt wurden.

Wir haben jetzt hier zu berichten über die Beständigkeit der Species, welche gefunden wurden: a) bei derselben Kuh während einer gegebenen Zeitdauer; b) in derselben Zitze derselben Kuh, und c) ob dieselben Species zu derselben Zeit bei verschiedenen Kühen zugleich vorkommen oder nicht.

Im Allgemeinen lieferte die in dem zuletzt genannten Berichte angeführte Arbeit den Beweis, daß es nicht erwiesen ist, daß dieselben Keime zu derselben Zeit und unter denselben Umständen verschiedenen Tieren gemeinsam sein können; aber daß ein gewisser Bewohner des Euters desselben Tieres ganz beständig sein kann. So wurde die Gegenwart nur einer Species No. 30 bei mehr als zweien von den ursprünglichen Versuchstieren zu verschiedenen Zeiten beobachtet, während mehrere verschiedene Species zu verschiedenen Zeiten in demselben Euter gefunden wurden.

Vom 1. Juli an wurden 3 Tiere in Kulturuntersuchung genommen, von denen No. 24 zu den ursprünglichen 10 gehörte, ebenso No. 21. Man versuchte Kulturen von jeder Zitze auf Gelatine und Agar, so oft es ausgeführt werden konnte, wobei man sich derselben Methoden zur Entnahme der Milch bediente, wie früher, ausgenommen, daß bei verschiedenen Versuchen an demselben Tiere die Milchröhre, oder der „trochar“ verschieden tief eingeführt wurde. Einige 60 von diesen verschiedenen Milchproben wurden zu fünfzehn verschiedenen Zeiten entnommen, während welcher Zeit die Kühe bei Tag eine reine Weide besuchten und die Nacht im Stalle zubrachten. Die Milchproben wurden bisweilen morgens, bisweilen abends entnommen. Im ganzen wurden 37 verschiedene Bakterienarten unterschieden; wie bei den früheren Arbeiten gehörten sie zu verschiedenen physiologischen Typen; es waren Gelatineverflüssiger, nicht Verflüssiger, solide Quarktypen (solid curd types), peptonisierende

Formen, saure und alkalische Gerinnenmacher (curdlers); darunter Bacillen, Mikrokokken von verschiedenen Formen und Streptokokken. So kann man im Allgemeinen sagen: die gesammelten Formen waren verschiedenartig.

Resultate: Wieder findet sich kein deutlicher Beweis, daß dieselben Species verschiedenen Tieren gemeinsam seien, aber die Konstanz des Auftretens gewisser Typen, wenn sie einmal vorhanden sind, tritt deutlich hervor. Dies war wohl zu erwarten, denn es ist kaum möglich, bei gewöhnlichem Melken alle Individuen von dem Milcheimer und den Räumen unterhalb der Zitzen auszuschließen.

Die folgenden Tafeln und Bemerkungen mögen die Resultate der Arbeit verdeutlichen.

Kuh No. 24. In jedem Strichel vorhandene Species nach den Tagen.

Zitze	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4
Exper. 1 am 2. Juli	No. 1	No. 1	No. 1	No. 5
„ 2 „ 3. „	6	1	9 u. 10	5, 100 u. 77 (Nicht entnommen)
„ 3 „ 4. „	16 (Nicht entnommen)	1	15	
„ 4 „ 6. „		17 u. 1	20	20
„ 5 „ 8. „	(Kultur verloren)	23	10, 61	26, 27, 15, 29 (Nicht entnommen)
„ 6 „ 10. „	30, 1	(Verloren)	31	
„ 10 „ 17. „	58, 53, 1	1	61	66, 20, 15, 1
„ 13 „ 23. „	96, 93, 94	1 (Nicht entnommen)	96, 67	20, 11, 100, 1
„ 15 „ 28. „	77, 67		66, 100 u. 67	67, 1

Die Nummern in den Kolonnen 1—4 sind die Laboratoriumzahlen und geben die verschiedenen Species an.

Bemerkung No. 1. Ein solider Quark und Milchsäure bildender Mikrokokkus erscheint an jedem Datum und in Zitze No. 2 an allen möglichen Tagen mit nur einer Ausnahme.

Die Nummern 5, 10, 15, 61 und 67 zeigten sich jede 2mal, mit Unterbrechung von beziehungsweise 2, 8, 7, 4 und 4 Tagen. Es ist bemerkenswert, daß, mit Ausnahme von No. 67, jede von ihnen jedesmal in derselben Zitze gefunden wurde.

Kuh No. 21. In jedem Strichel vorhandene Species nach den Tagen.

Zitze	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4
Exper. 8 am 12. Juli	No. 45	No. 31	No. 27, 31	No. 20
„ 9 „ 15. „	(Verloren)	31, 50	29, 53 (Nicht entnommen)	55, 56, 57, 31
„ 12 „ 16. „	53, 61, 56	31, 45		(Verloren)

Bemerkung. Bei diesem Tiere ist zu bemerken, daß No. 31, ein Milchsäure bildender Mikrokokkus, an allen Tagen anwesend ist und jeden Tag im Strichel 2 gefunden wird.

Von anderen Keimen wurden zweimal gefunden die Nummern 45, 53 und 56, aber jedesmal in einer anderen Zitze.

Kuh No. 26. In jedem Strichel vorhandene Species nach den Tagen.

Zitze	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4
Exper. 7 am 1. Juli	33, 1	33	39, 61, 67	17, 44, 33
„ 17 „ 17. „	66 100, 67, 17, 33	33, 15	33	53, 77
„ 14 „ 23. „	33	67, 33	33	(Verloren)

Bei diesen 3 Melkungen von der Kuh No. 26 sind, wie man sieht, die an jedem Tage vorkommenden Species die Nummern 33 und 67. Unter 11 entnommenen Milchproben kommen sie in den Kulturen 9mal vor. Dazwischen liegen 16,6 und 22 Tage. No. 33 ist ein Streptococcus und liefert bei diesen durch die Zeit von einander entfernt liegenden Proben einen starken Beweis, daß bei einer bestimmten Species die Konstanz des Vorkommens möglich ist. Nach der Art seines Wachstums ist dieser Keim fast streng anaërobisch.

Wenn wir diese Tafeln durchgehen, finden wir für jedes Tier das Vorkommen folgender nummerierter Keime:

Kuh No. 24: Die Nummern 1, 5, 6, 9, 10, 100, 77, 15, 16, 17, 20, 23, 61, 26, 27, 29, 30, 31, 58, 53, 66, 96, 93, 94, 97, 11 und 67; im ganzen 27 verschiedene Formen.

Kuh No. 21: Die Nummern 45, 31, 27, 20, 50, 29, 53, 55, 56, 57 und 51; im ganzen 12.

Kuh No. 26: Die Nummern 33, 1, 39, 61, 67, 17, 44, 66, 100, 15, 53 und 77, im ganzen zwölf.

Den 3 Tieren gemeinschaftlich ist nur die Form 53, während 2 von ihnen die Nummern 1, 100, 77, 15, 61, 29, 31, 66, 67, 29 und 20 gemeinsam aufweisen. 11 konstante Formen.

Allgemeine Bemerkungen. Aus diesen Uebersichten ersieht man, daß die Kuh No. 24 bei 9 verschiedenen Melkungen 27 von den 37 Keimen der verschiedenen Proben lieferte, die Kuh No. 21 6 und die Kuh No. 26 4. Die gezählten Keime von der zuletzt genannten Kuh sind der Ausdruck von nur 3maligem Melken. Es ist also möglich, daß mehrmaliges Melken dieser Kühe noch andere, mit denen der Kuh No. 24 gemeinsame, ergeben hätten. Während dieser zuletzt genannte Punkt wahrscheinlich eine richtige Ansicht ausspricht, ist es doch ganz deutlich angezeigt, daß die große Mehrzahl der Keime nur zufällig zu einer gewissen Zeit in einem gegebenen Euter oder Zitze angetroffen wird und vielleicht von der Umgebung des Tieres herrührt. Man findet jedoch gewisse einzelne Keime, welche, wenn sie einmal in einer Zitze oder Euter vorhanden sind, mit auffallender Beharrlichkeit darin wieder erscheinen. Was diese Fähigkeit betrifft, so findet man, daß sie wahrscheinlich die passenden physiologischen Funktionen oder Eigenschaften besitzen, wie z. B. die Fähigkeit, in der normalen Temperatur des tierischen Körpers gut zu gedeihen, oder ihr zu widerstehen, sowie anaërobische, oder semi-anaërobische Eigenschaften.

Wie die früher erwähnte Arbeit wird auch diese nicht als endgültiger Beweis für die erwähnt Punkte oder Ansichten gegeben, sondern, nur als vorläufiger Bericht über ausgeführte Arbeiten.

Ich wiederhole es, eine interessante Erscheinung ist die vergleichungsweise geringe Zahl der Species in jeder Milchprobe. Bei der ersten Arbeit der Wintersammlungen variirte sie zwischen einer und vier Species, dies Mal zwischen einer und fünf, mit einer ziemlich hohen Durchschnittszahl. Ebenso ist es interessant, obgleich

man es vielleicht erwarten konnte, daß die qualitativen Bestimmungen bei verschiedenen Milchentnahmen zwischen hohen und niedrigen Zahlen schwanken, was mit den zuletzt genannten Ziffern gut übereinstimmt.

Versuchsstation Fargo in Nord Dakota, am 20. August 1895.

Die im Miste vorkommenden Bakterien und deren physiologische Rolle bei der Zersetzung desselben.

[Aus dem Laboratorium der bakteriologisch-agronomischen Station bei der Kaiserlich Russischen Akklimatisationsgesellschaft für Pflanzen und Tiere in Moskau.]

Mitteilung 2.

Von

S. A. Sewerin.

In meiner ersten Mitteilung „Die im Miste vorkommenden Bakterien und deren physiologische Rolle bei der Zersetzung desselben" [1]) besprach ich meine mikroskopischen Beobachtungen über Pferdemist, die Resultate zweier bakteriologischer Analysen, ausgeführt unter Bedingungen der Aërobie und teilte zum Schluß fünf Versuche mit, die allesamt den Zweck hatten, die physiologische Thätigkeit der von mir isolierten Bakterien bei der Zersetzung des Mistes aufzuklären. In vorliegender Arbeit erlaube ich mir die Resultate noch einer Analyse vorzuführen, welche nicht unter Bedingungen der Aërobie ausgeführt wurde, wie die beiden früheren, sondern unter Rücksichtnahme auf Verhältnisse der Anaërobie; außerdem will ich hier einige neuere Beobachtungen, die physiologische Seite des uns interessierenden Gegenstandes betreffend, vorführen. Als Untersuchungsmaterial für die bakteriologische Analyse diente mir diejenige Probe Mist, welche durch das Vorhandensein einer äußerst interessanten bacillären Form die Aufmerksamkeit auf sich zog. Dieselbe erinnerte durch ihre äußere Form und durch ihr Verhalten zur Ziehl'schen Lösung an Bac. tuberculosis, worüber schon in meiner ersten Arbeit gesprochen wurde. Die Probe Mist war aus dem Pferdestall genommen, aus einer Tiefe von 18 cm; dieselbe war ca. 3 Monate alt, dem Aeußeren nach nicht besonders stark zersetzt, ziemlich trocken (ca. 50 Proz. Feuchtigkeit), stark abgelagert. Bei der mikroskopischen Untersuchung wurde das Vorherrschen von Mikrobakterien und Kokken konstatiert, bacilläre Formen und endospore Bildungen trafen sich bloß in unbedeutenden Mengen. Die Probe wurde am 4. Oktober 1893 entnommen und, vorher etwas angefeuchtet, in ein cylindrisches Gefäß gethan und mit gut passendem Gummikork geschlossen. Der Gummikork ent-

1) Centralblatt f. Bakter. und Paras. I. Bd. II. Abt. No. 3. 4/5. 1895.

hielt zwei Oeffnungen für zwei gebogene Röhren, von welchen die eine bis auf den Boden des Cylinders reichte, die andere dagegen dicht unter dem Kork mündete. Durch diesen Apparat wurde im Laufe einer $^1/_2$ Stunde ein Strom Wasserstoffgas hindurchgeleitet, worauf die Ein- und Austrittsöffnungen, ebenso wie der Kork selbst, mit einer dicken Schicht Paraffin vergossen wurden (Methode von Hueppe und Fraenkel). So vorbereitet, wurde der Apparat in den Thermostaten bei 37—38° C. gestellt. Nach Verlauf von 24 Stunden konnte man schon die eintretende Gärung konstatieren, infolge der Bildung von Gasblasen unter einer Schicht von Flüssigkeit, die sich am Boden des Cylinders angesammelt hatte. Die Gasentwicklung nahm im Laufe der Zeit merklich zu, der Gasdruck wurde stärker, was man sehr leicht an der Höhe der Flüssigkeitssäule im längeren Glasröhrchen, welches bis auf den Boden des Cylinders reichte, beobachten konnte; die Flüssigkeitssäule stieg allmählich immer höher. Nach Verlauf eines Monats wurde die Energie des Zersetzungsprozesses allmählich schwächer, die Gasblasen wurden immer seltener. In diesem Zustande blieb der Mist bis zum 15. Februar 1894, worauf der Gascylinder geöffnet wurde: ein Gasdruck war nicht bemerkbar, ebenso ein specifischer Geruch. Nach der Oeffnung des Cylinders wurde der Mist einer mikroskopischen Untersuchung unterworfen, wobei als vorherrschend sich dicke, plumpe, häufig unförmliche Stäbchenformen erwiesen, zum größten Teile zweigliedrig. Die übrigen Formen waren Mikrobakterien, regelmäßig geformte Stäbchen, häufig fanden sich auch sehr dünne, zarte Stäbchen mit zugeschärften Enden, wenige sich rot färbende Stäbchenformen, endlich Kokken und sehr selten lange, fadenartig gestreckte Formen. An demselben Tage wurden aus dem auf die beschriebene Art vorbereiteten Miste folgende Kulturen angelegt: Kultur auf Agar-Agar in zwei Petri'schen Schalen, die eine mit Verdünnung, die andere ohne dieselbe; Kultur auf Mistbouillon; Kultur auf Agar-Agar in zwei Schalen nach Dr. Gabritschewsky für anaërobe Kulturen [1]); drei Röhrchen nach Vignal und zwei Pasteur'sche Probierröhrchen für anaërobe Kulturen mit Bouillon. Die aëroben Kulturen gaben mir die Möglichkeit, 8 Arten von Bakterien zu isolieren, von denen zwei sich als identisch mit den bei der früheren Analyse erhaltenen erwiesen; die eine derselben ist in meiner früheren Mitteilung unter No. 1 beschrieben. Alle 8 Arten gehören zur bacillären Form, sind streng aërob; in Bouillon wenigstens, unter Beobachtung der Anaërobie, gedeihen sie nicht, und 7 von ihnen zeigen endospore Bildungsformen.

Die Kulturen in Schalen von Dr. Gabritschewsky ergaben negative Resultate in dem Sinne, daß es mir nicht gelang, aus denselben anaërobe Arten zu isolieren, im Gegenteil, es konnte eine reichliche Wucherung von aëroben Arten konstatiert werden. Ueberhaupt muß man sagen, daß die Schalen von Gabritschewsky, so sinnreich nach ihrer Idee, so wenig ihrem Zweck entsprechen in betreff ihrer praktischen Verwendbarkeit. Alle meine folgenden Versuche,

1) Bei allen anaëroben Kulturen wurde die Luft durch H. ersetzt.

streng anaërobe Arten in diesen Schalen zu kultivieren, wurden nie von Erfolg gekrönt, ungeachtet aller dabei ergriffenen Maßregeln zur Schaffung von anaëroben Bedingungen in der Höhlung der Schalen, laut eigener Empfehlung des Autors. Es steht außer allem Zweifel, daß die Luft ihren Zutritt ins Innere der Schalen an den Berührungsstellen des Deckels mit der Schale findet, ungeachtet aller die Berührungsstellen verbindenden Kitte und Klebstoffe. Zur Vermeidung dieses Uebelstandes ist jedenfalls ein äußerst genauer Schliff der Berührungsstellen erforderlich, besonders bei einer so großen Berührungsfläche, wie bei den Schalen von Dr. Gabritschewsky[1]).

Auf diese Art hatte ich in Gabritschewsky'schen Schalen wiederum mit aëroben Arten zu thun und alle waren, wie sich erwarten ließ, identisch mit den aus den Petri'schen Schalen erhaltenen Formen, mit Ausnahme einer neuen, aber auch streng aëroben, bacillären Art, die auf Kartoffeln nicht wuchs und mir nicht ein einziges Mal Gelegenheit gab, bei ihr endospore Bildung zu beobachten.

So wenig die Schalen von Gabritschewsky den Ansprüchen der Anaërobie entsprechen, um somehr erschien die Methode von Vignal, mit Glasröhrchen, die mit Nährsubstrat gefüllt werden, einfach und die Zwecken der Anaërobie vollkommen entsprechend. In diesen Röhrchen, bei 37—38° C. aufbewahrt, waren schon nach Verlauf von 48 Stunden blos zwei Arten von Kolonieen deutlich unterscheidbar und namentlich die eine schiffchenförmig mit glatten Konturen, die andere in der Form von Moosbüscheln. Aus diesen zwei Arten von Kolonieen wurde nach der Oeffnung der Röhrchen das Material zur Aussaat in anaërobe Bouillon entnommen. Nach 2 Tagen ließ sich schon die Entwickelung beider Kulturen in der Bouillon beobachten. Aus der Bouillonkultur wurden neue Vignal-sche Röhrchen angefertigt, welche abermals nach 2 Tagen die völlige Trennung beider Arten voneinander zeigten, da in dem einen Röhrchen sich ausschließlich die schiffchenförmige Art mit glatten Konturen entwickelt hatte, in dem anderen Röhrchen dagegen die Art in Form der Moosbüschel.

Die fernere Beobachtung der zwei isolierten Kulturen ergab folgendes: Die Kolonieen in Form von Moosbüscheln erwiesen sich nach ihrer Entwicklung auf Gelatine, Agar-Agar und Bouillon dem Tetanusbacillus vollständig ähnlich; diese Aehnlichkeit wurde noch schärfer durch das mikroskopische Bild hervorgehoben, in welchem die Bouillonkulturen am 3.—4. Tage beinahe ausschließlich aus den für Tetanus charakteristischen stecknadelförmigen Stäbchen bestanden. Um sich endgültig davon zu überzeugen, daß die von mir isolierte Kultur in der That aus dem pathogenen Tetanus besteht und nicht die von Nicolaier beschriebene nichtpathogene Varietät darstellt, wurden aus der dreitägigen Kultur Einspritzungen gemacht, jede zu 0,5 ccm einem Kaninchen und einem Meerschweinchen ins Muskelfleisch des hinteren Oberschenkels, wobei vor der Einspritzung der

---

1) Die Schalen von Dr. Gabritschewsky sind beschrieben in Centr. f. Bakt. und Parasit. Bd. X. p. 248.

Kultur zu $^1/_4$ ccm 5-proz. Milchsäurelösung eingespritzt wurde. Das Kaninchen ging schon nach 24 Stunden zu Grunde, das Meerschweinchen nach 4 Tagen, unter allen Anzeichen einer Tetanusvergiftung. Beim Kaninchen waren keine lokalen Veränderungen bemerkbar, beim Meerschweinchen erschien an der Stichstelle starke Eiterung. Sogleich nach dem Tode des Kaninchens wurde aus der Bauchaorta mit Hilfe des von Latapis angegebenen Apparates Blut entnommen, von welchem nach Verlauf von 24 Stunden ein kleines Quantum Serum abgenommen wurde. Um die Toxicität des gesammelten Serums zu zeigen, wurde dasselbe in einer Menge von nicht mehr als 1—2 Tropfen in die Bauchhöhle einer weißen Maus eingespritzt; nach Verlauf von wenigen Minuten verendete die Maus nach 3—4 krampfartigen Sprüngen. Alle hier angeführten Thatsachen beweisen unzweifelhaft, daß die isolierte Kultur in der That Tetanus war. Ein kleines Quantum dieses stark toxischen Serums wurde in einer Matras Pasteur's, d. h. bei Zutritt der Luft aufbewahrt; nach Verlauf von 6 Monaten wurden abermals weißen Mäusen Einspritzungen gemacht, die Toxicität war aber, wie zu erwarten stand, schon zerstört und die Mäuse blieben am Leben.

Der andere Anaërob, der aus dem Vignal'schen Röhrchen erhalten wurde, war nicht pathogen. Beifolgend geben wir seine genaue Charakteristik:

Kultur im Vignal'schen Röhrchen auf Agar-Agar. Die Kolonieen erscheinen nach 24 Stunden bei 37—38° C., sie sind rund oder schiffchenförmig, dunkelbraun, andere heller mit gelblicher Schattierung, bei letzteren sieht man deutliche Granulation der Oberfläche. Konturen glatt, aber bei der Mehrzahl sieht man an irgend einer beliebigen Stelle der Peripherie kleine Hervorragungen in der Kolonie, in Form von unregelmäßigen Häufchen. Dieselbe Form behalten die Kolonieen auch bei ihrer weiteren Entwickelung bei. Außerdem erscheinen schon nach den ersten 24 Stunden auf der ganzen Längsseite der Röhrchen in der Agarmasse Bläschen, wahrscheinlich von einem reduzierenden Gase herrührend, da in den Röhrchen, in welchen das Nährsubstrat mit einer schwachen Indigolösung blau gefärbt war, die Färbung nach Verlauf der ersten 24 Stunden völlig verschwunden war.

Kultur in Vignal'schen Röhrchen auf Gelatine. Die Kolonieen erscheinen nach 2 Tagen bei gewöhnlicher Temperatur, sie sind rund oder oval, hellgelb, bräunlich; die Oberfläche fein granuliert, Konturen glatt. Auch in der Gelatine beobachtet man starke Gasentwickelung. Die Gelatine wird nicht verflüssigt.

Stich in Gelatine nach Verlauf einer Woche ziemlich bedeutend, undurchsichtig, weiß oder leicht gelblich schattiert.

Strich auf Agar nach 24 Stunden bei 37—38° C. Auf der Oberfläche der Agarmasse ist gar kein Wuchs bemerkbar, die Kultur sinkt in die Tiefe des Nährsubstanz ein und durchzieht sie in verschiedenen Richtungen, in Form von weißlichen, äußerst dünnen Schichtungen. Die Gasentwickelung ist sehr reichlich, in dem Maße sogar, daß die Agarmasse an einzelnen Stellen längs der ganzen Masse zerreißt und die einzelnen Teilchen derselben durch Gasschichten auseinandergedrängt werden. In diesem Zustande bleibt

die Kultur auch bei ihrer ferneren Entwickelung, bloß fallen die auseinandergeschobenen Teile des Agars mit der Zeit zusammen.

Kultur in Bouillon. Nach 24 Stunden und bei 37—38° C wird die Bouillon stark trübe, ein Bodensatz ist nicht bemerkbar; nach Verlauf von 10—15 Tagen wird die obere Schicht der Bouillon klar, bei weiterem Verlaufe des Vegetationsprozesses wird allmählich die ganze Bouillon klar und es erscheint ein reichlicher Bodensatz. Unter dem Mikroskop beobachtet man plumpe Stäbchen, häufig unförmlich gebaut, mit abgerundeten oder gerade abgeschnittenen Enden; die Mehrzahl besteht aus nicht mehr als 2 Gliedern; zuweilen kommen auch Formen vor mit einer größeren Anzahl von Gliedern, obgleich lange Fäden nicht gebildet werden. Das Protoplasma der unförmlichen Stäbchen ist körnig und färbt sich ungleichmäßig. Eigenbeweglichkeit, sowie endospore Bildung wurde nicht beobachtet. Dicke der Stäbchen 1 μ, Länge 2—8 μ. Dieselben Formen kommen sowohl in jüngeren, wie auch in älteren Entwicklungsstadien der Kulturen vor.

Kultur in Milch. Die Milch gerinnt bei 37—38° C, nach 24 Stunden in Form einer kompakten Masse, über derselben steht eine klare Schicht Molken.

Mehrmals versuchte Kulturen auf Kartoffeln ergaben keine Resultate. Die Einspritzung von $^1/_2$ ccm Bouillonkultur einem Meerschweinchen in die Bauchhöhle und einem Kaninchen ins Muskelfleisch hatte gar keine Wirkung.

Bei der Beobachtung wurde der Mikroorganismus in einer H-Atmosphäre kultiviert.

Der beschriebene Mikroorganismus ist streng anaërob.

Aus der anaëroben Bouillon im Pasteur'schen Röhrchen wurden dieselben zwei anaëroben Formen isoliert

Folglich gab mir die ausgeführte Analyse die Möglichkeit, aus dem oben beschriebenen Muster Mist 11 Arten von Bakterien zu isolieren; unter denselben waren 9 streng aërobe Arten und 2 anaërobe, wobei der oben beschriebene, nicht pathogene Anaërob sich bedeutend empfindlicher gegen die Anwesenheit auch nur geringer Mengen Luft erwies, als der Tetanusbacillus, infolgedessen er als wirklicher Repräsentant der streng anaëroben Mikroorganismen gelten kann. Unter anderem muß ich übrigens noch hinzufügen, daß aus derselben Probe Mist, bevor sie unter Bedingungen für die anaërobe Kultur gebracht wurde, der mir zufällig aufgefallene, durch seine intensiv roten Kulturen auf verschiedenen Nährsubstraten sich auszeichnende Bacillus indicus (Koch) isoliert wurde, der aber bei der eigentlichen Analyse nicht mehr gefunden werden konnte. Ob er in der Folge bei der Anaërobie zu Grunde gegangen, oder, was auch möglich, bloß zufällig in diese Probe Mist hineingeraten war, darauf eine befriedigende Antwort zu geben, ist natürlich nicht leicht. Zusammengenommen enthielt also die untersuchte Probe Mist 12 Arten von Mikroorganismen.

Wenn wir jetzt die mikroskopischen Bilder des untersuchten Mistes vor seiner Zubereitung für Anaërobie und nach viermonatlichem Verweilen unter Bedingungen der Anaërobie vergleichen, sowohl untereinander, als auch mit den Resultaten der Analyse, so können wir, wie es mir scheint, zu folgenden Resultaten gelangen:

1) Die Kokkenform, die in der untersuchten Probe Mist vor Anstellung des Versuches die vorherrschende war, ging zu Grunde während der streng anaëroben Bedingungen, in welchen sich der Mist befand. Für diese Behauptung spricht sowohl das mikroskopische Bild nach dem Versuche, als auch die Resultate der Analyse (es wurde keine einzige Kokkenform isoliert). 2) Die Bedingungen des Versuches waren augenscheinlich am günstigsten für den nicht pathogenen Anaëroben, da im mikroskopischen Bilde nach dem Versuche das Vorherrschen eben dieser plumpen, sehr häufig unförmlichen Stäbchen, die dieser Mikroorganismus in Bouillonkulturen bildet, konstatiert wurde. 3) Einige Arten von Mikroorganismen, die sich in der untersuchten Probe Mist befanden, sind augenscheinlich nicht in Reinkulturen isoliert worden; die Ursache davon ist am allerwahrscheinlichsten in der denselben nicht zusagenden Zusammensetzung der bei der Analyse benutzten Nährsubstrate zu suchen. 4) Die bacillären Formen (mit Ausnahmen der Anaëroben) dieser Probe Mist befanden sich augenscheinlich, sowohl bis zum Versuche, als auch während der Dauer der Anaërobie, in ungünstigen Bedingungen. Zu Gunsten dieser Voraussetzung spricht zum mindesten die mikroskopische Beobachtung. Wenn die Analyse auch Gelegenheit gab, 9 streng aërobe Bacillenformen zu isolieren, die 4 Monate unter ihnen so wenig zusagenden anaëroben Lebensbedingungen zugebracht hatten, so kann dieses natürlich am einfachsten erklärt werden durch die Fähigkeit der Mehrzahl derselben, Sporenkulturen zu geben, obgleich in einer noch so wenig aufgeklärten Frage auch andere Voraussetzungen Geltung haben können, so z. B. daß mehrere von ihnen bei den Bedingungen, unter welchen der Versuch vor sich ging, gleichzeitig auch anaërob sein konnten, oder daß die zwei Arten, die auf den ihnen dargebotenen Nährsubstraten keine Endosporen gaben, dieselben hier im Miste bilden konnten u. s. w. Sei dem nun, wie es wolle, so weisen doch sowohl die hier vorgelegte Analyse einer Probe Mist, wenn auch unter künstlichen Bedingungen (und infolgedessen mit kleinen Ungenauigkeiten behaftet), als auch die Resultate zweier früherer Analysen, über welche ich in meiner früheren Mitteilung sprach, darauf hin, daß im allgemeinen die Anzahl der bakteriellen Arten in den verschiedenen Schichten des Pferdemistes nicht so groß ist, als man glauben möchte, wogegen die Verschiedenheit der Arten der bakteriellen Bevölkerung in Abhängigkeit von verschiedenen Bedingungen des Aufbewahrungsortes des Mistes, seiner Zusammensetzung u. s. w. sehr bedeutend variiert. Diese Thatsache konnte schon durch Vergleiche der Resultate der zwei ersten Analysen konstatiert werden, wobei sie noch durch folgendes ihre Bestätigung findet: Von den 12 isolierten Kulturen erwiesen sich bloß 2 als identisch mit den bei der ersten Analyse beschriebenen, alle übrigen stellten neue, früher nicht beobachtete Arten dar. Die Anzahl der anaëroben Arten im Mist, wie a priori geschlossen werden konnte, erwies sich als nicht bedeutend. Es muß dabei natürlich nicht außer acht gelassen werden, daß, wenn ich hier von einer bakteriellen Bevölkerung des Mistes rede, eigentlich bloß diejenigen Arten von Bakterien in Betracht kommen können, die sich auf den gewöhnlichen, in der bakteriellen Praxis

gebräuchlichen Nährsubstraten entwickeln können, mit welchen ich auch eigentlich nur gearbeitet habe. Dieser Vorbehalt erschien mir notwendig aus dem Grunde, weil wir schon mehrere Beispiele von solchen Mikroorganismen haben, die zu ihrer Entwicklung besonderer Nährsubstrate bedürfen. Dies ist auch die Ursache, weßhalb die Bezeichnung „bakterielle Bevölkerung“ bloß bedingungsweise zu verstehen ist.

Die von mir ausgeführten drei Analysen gaben mir auf solche Art die Möglichkeit, 26 verschiedene Arten von Bakterien, die den Pferdemist bevölkerten, zu isolieren. Jetzt will ich zur Beschreibung der Versuche übergehen, die ich angestellt habe, um die physiologische Rolle, die die von mir isolierten Mikroorganismen bei der Zerlegung des Pferdemistes spielen, zu ergründen. In meiner ersten Mitteilung sind fünf derartig ausgeführte Versuche beschrieben, das Material dazu lieferten drei Kulturen, die daselbst unter No. 1, 2, 3 beschrieben sind, In vorliegender Arbeit beabsichtige ich, noch sieben derartig von mir ausgeführte Versuche vorzulegen, in welchen, außer den schon beschriebenen Kulturen 1, 2 und 3, noch zwei neue Arten Bakterien mitbeteiligt waren. Um Mißverständnisse in betreff der verwendeten Bakterien zu vermeiden, führe ich hier die Beschreibung derselben ausführlich vor:

No. 4.

Kulturen auf Agar nach 24 Stunden bei 37—38° C. Kolonieen, in der Tiefe sich befindend, klein, rund oder oval, braun, hell oder dunkel gefärbt, die Oberfläche kaum bemerkbar zottig; einige Kolonieen strecken nach allen Seiten Haargebilde vor, zottige Konturen bildend, bei anderen treten die Haare bloß aus einer Stelle der Kolonie hervor. Die Kolonieen, die näher zur Oberfläche liegen, haben das Aussehen hellbrauner Flecken, bestehend aus einer Menge sehr zarter, ineinander verfilzter Haarbüschel; Kolonieen, ganz an der Oberfläche liegend, haben die Form hellbrauner Knäuel, aus ebensolchen Haaren bestehend, in die Masse derselben sind dunkle Fleckchen hineingesprengt; außerdem sind die Kolonieen mit einer Masse verschiedenartig gebrochener Streifchen wie bekritzelt; diese Streifen entsprechen den häutigen Runzeln, welche die Oberfläche jeder Kolonie bedecken. Makroskopisch ist schon nach 24 Stunden die ganze Oberfläche der Plattenkultur mit einem dünnen, runzligen festen Häutchen überzogen.

Kultur auf Gelatine nach 2—3 Tagen bei gewöhnlicher Temperatur. Kolonieen, in der Tiefe liegend, rund, oval oder unregelmäßig gerundet, diejenigen etwas kleineren Umfanges sind hellbraun, die größeren dunkelbraun; längs der Peripherie bemerkt man einen helleren, nicht scharf abgegrenzten Reifen; die Oberfläche der größeren Mehrzahl der Kolonieen ist glatt, bei anderen beobachtet man eine undeutliche Streifung in Form von Haaren, die Konturen sind dunkel, scharf abgegrenzt, stellenweise vollständig glatt, stellenweise mit geringen Ausschnitten versehen. Kolonieen, auf der Oberfläche liegend, sind rund, hellgrau-braun, die Oberfläche ist deutlich mit bürstenartigen Haaren bedeckt, Konturen scharf, glatt, stellenweise bürstig. Makroskopisch rund, kaum sich über die Oberfläche der Gelatine erhebend, weiß, im durchfallenden Lichte perlmutterartig. Nach 5—6 Tagen beginnt die Verflüssigung, wobei die in der Tiefe

liegenden Kolonieen, ihre ursprüngliche Form bewahrend, nach allen Seiten zarte Haare aussenden, infolgedessen die Kolonieen längs der Peripherie ein zottiges Aussehen bekommen; die an der Oberfläche liegenden und in der Verflüssigung begriffenen Kolonieen unterscheiden sich fast in nichts von den sich noch nicht verflüssigenden Kolonieen.

Strich auf gewöhnlichem Agar nach 24 Stunden bei 37—38° C. Trocken, dünn, fast die ganze Oberfläche des Substrates überziehend, grau, häutig, runzelig.

Strich auf Mistagar grau, weiß, nicht breit, von weicher Konsistenz, der Strich hat überhaupt nichts Gemeinsames mit dem Strich auf gewöhnlichem Agar.

Stich in Gelatine nach 2 Tagen bei gewöhnlicher Temperatur. Grauweiß, undurchsichtig, ziemlich reichlich, ohne Häubchen. Am 3. Tage, zuweilen sogar bedeutend später, beginnen längs des ganzen Stichkanales Härchen zu erscheinen und oben an der Stichstelle bildet sich eine kleine Einsenkung, die sich mit der Zeit immer mehr und mehr vertieft, um schließlich ein Bläschen zu bilden, mit einem festen Häutchen überzogen. Nach 10—15 Tagen beginnt die Gelatine sich um das Bläschen herum zu trüben, worauf sehr geringe Mengen verflüssigter Gelatine erscheinen; bald ist die ganze obere Schicht verflüssigt und die weitere Verflüssigung vollzieht sich in parallelen Zonen von oben nach unten, bloß äußerst langsam. Die verflüssigte Gelatine nimmt eine gelbgrünliche Färbung an, an der Oberfläche hinterbleibt, noch vom Bläschen her, das feste Häutchen mit umgebogenen Rändern; gewöhnlich reicht es nicht bis zu den Wänden des Probierröhrchens. In Mistgelatine vollzieht sich die Härchenbildung und Verflüssigung bedeutend schneller.

Kultur in Bouillon nach 24 Stunden bei 37—38° C. Die Bouillon ist vollständig klar, die Oberfläche bedeckt sich mit einem festen, runzligen Häutchen. Unter dem Mikroskop beobachtet man dünne Stäbchen mit abgerundeten Enden, mit oscillierenden, nicht besonders heftigen Bewegungen und verschiedener Anzahl von Gliederteilchen; lange Fäden wurden jedoch nicht gebildet, viele Stäbchen sind in endosporer Entwicklung begriffen. Ganz am Ende eines Teilstäbchens liegt je eine längliche Spore von 0,4—0,5 μ. Das Häutchen besteht ganz aus Endosporen; die Länge des Teilstäbchens ist 1—6 μ, die Dicke 0,6—0,8 μ.

Im hängenden Tropfen betrachtet, entwickelt sich dasselbe Bild wie in der Bouillon.

Strich auf Kartoffel nach 24 Stunden bei 37—38° C. In Form eines aus Bläschen bestehenden Anfluges, an Körperfarbe erinnernd, mit fleischfarbiger Schattierung. In den Bläschen sieht man Ansammlung von Flüssigkeit, nach einigen Tagen fallen die Bläschen zusammen und an ihrer Stelle bildet sich ein runzliges Häutchen.

Milch gerinnt nach 6—7 Tagen, die Reaktion der Milch ist schwach alkalisch.

In Bouillon, bei Bedingungen der Anaerobie, gedeiht nicht.

No. 5.

Kultur auf Agaragar nach 24 Stunden bei 37—38° C. Kolonieen, in der Tiefe liegend, rund oder schiffchenförmig, dunkelbraun mit

scharf abgegrenzten, dunklen, glatten Konturen; Kolonieen auf der Oberfläche liegend, rund oder nierenförmig, heller, mit gelber Schattierung, die Oberfläche fein granuliert, Kontouren glatt. Makroskopisch rund, porzellanartig, im durchfallenden Lichte perlmütterglänzend; erheben sich über die Oberfläche des Nährsubstrates in der Form von flachen Plättchen.

Kultur auf Gelatine nach 2 Tagen bei gewöhnlicher Temperatur. Kolonieen in der Tiefe liegend rund oder oval, bräunlich, einige heller, mit gelblicher Schattierung, die Oberfläche sehr fein granuliert, Konturen dunkel, scharf, stellenweise fein gebuchtet. Kolonieen auf der Oberfläche haben dieselbe Form, bloß etwas größer, heller, mit gelblicher Schattierung, die Granulation deutlicher hervortretend. Beim Beginn der Verflüssigung bilden sich an den Kolonieen unregelmäßig geformte Auswüchse, in der Folge werden die ganzen Kolonieen wie zottig, stark körnig und fließen aus.

Strich auf Agar nach 24 Stunden bei 37—38° C. dünn, schmal, perlmutterartig.

Stich in gewöhnliche und Mistgelatine nach 24 Stunden bei gewöhnlicher Temperatur, weiß, dünn, durchsichtig. Nach 3 Tagen beginnt die Verflüssigung in der Art eines Schälchens auf der Oberfläche, nach 7 Tagen ist die obere Schicht der Gelatine verflüssigt und die weitere Verflüssigung schreitet fort in parallelen Schichten.

Kultur in Bouillon nach 24 Stunden bei 37—38° C. Bouillon leicht getrübt, auf dem Grunde ein kleiner Bodensatz, der beim Aufschütteln sich in der Art von zähen Fäden in die Höhe hebt. Unter dem Mikroskop sieht man Kokkenformen zu 2- 3- 4 und mehr zusammen, Trauben bildend. Durchmesser ca. 1 μ. Nach 3 Tagen dasselbe Bild, Bouillon schwach getrübt.

Im hängenden Tropfen dasselbe Bild wie in Bouillon.

Strich auf der Kartoffel entwickelt sich sehr langsam. Nach 3—4 Tagen erscheint bei 37—38° C ein sehr schmaler, hellgelblicher, trockner Strich, der auch ferner unverändert bleibt; bei anderen Impfungen erschien anstatt eines solchen Striches ein einfacher weißlicher Anflug auf dem unteren Teile des Kartoffelplättchens.

Die Milch gerinnt sehr langsam, Reaktion schwach alkalisch.

Was nun den Apparat anbetrifft, vermittelst welches die Versuche ausgeführt wurden, so will ich denselben hier natürlich nicht beschreiben; als Maßstab für die Lebensenergie der Bakterien beim Zersetzen des Mistes dienten mir CO_2 und NH_3, wie bei den früheren Versuchen, weshalb auch der Apparat derselbe blieb, wie er in meiner ersten Mitteilung geschildert ist. An diesem Orte erlaube ich mir bloß einige kleine Bemerkungen zu meinen Versuchen hinzuzufügen.

Die Fehlerquellen an meinem Apparate sind nicht groß, beim Leerarbeiten so zu sagen, d. h. ohne das Gefäß mit Mist, werden NH_3 und CO_2 der Luft vollständig absorbiert in den dazu bestimmten Absorptionskolben, ebenso wird der Luftstrom genügend ausgetrocknet beim Durchstreichen durch das Glas mit H_2SO_4, ein Uebersteigen von Flüssigkeiten aus einem Gefäß ins andere findet nicht statt. Alles dieses ist die Ursache, weshalb bei einer derartigen Prüfungszeit, wie $^1/_2$ Monat, beim beständigen Durchsaugen eines Luftstromes

durch den Apparat, die titrierte Säure in den U-förmigen Röhrchen unverändert bleibt; die Geisler'schen Kölbchen mit KOH und H_2SO_4 ändern sich im Gewicht bloß um 0,001—0,002 g nach + oder —. In betreff dessen, daß ich für meine Versuche Portionen in gewissem Maße sozusagen künstlich zubereiteten Mistes benutze — ich nehme nämlich zu jedem Versuche gleichmäßig 150 g vollständig frischen Pferdekot, 15 g frisches Stroh, 50 ccm vollständig frischen, unterm Pferde entnommenen Harn und 50 ccm Wasser — so bin ich der Meinung, daß derartig zubereitete künstliche Zusammensetzung nicht sehr bedeutend abweichen kann von vollständig frischem, unter gewöhnlichen natürlichen Bedingungen entstandenem Miste. Die einzelnen Bestandteile der Mischung sind dieselben; beim Bestimmen der quantitativen Verhältnisse wurden mittlere Normen von Jahresmengen harter und flüssiger Exkremente des Pferdes und des gewöhnlich zu diesem Zwecke benutzten Streumaterials als Richtschnur genommen. Der Vorzug derartiger künstlicher Mischungen besteht in ihrer unzweifelhaft größeren Gleichartigkeit im Vergleich zum Mist, der zu verschiedenen Zeiten aus dem Stalle oder dem Düngerhaufen entnommenen, infolgedessen auch die Genauigkeit der Vergleiche der einzelnen Versuche untereinander bedeutend zunimmt. Mit einem Wort, dank dieser Methode, infolge der Gleichmäßigkeit der benutzten Portionen Mist und ihrer vollkommenen Frische (weswegen vor Beginn des Versuches noch keine Zersetzungsprodukte eingetreten sein können), wird durch jeden meiner Versuche das erste Stadium des Zersetzungsprozesses unter dem Einflusse der einen oder der anderen Art von Mikroorganismen des Mistes konstatiert, und jeder nachfolgende Versuch kann ohne besondere Fehlerquellen mit dem vorhergehenden verglichen werden. Denn, in betreff dessen, daß bei allen Versuchen die Luft, bevor sie in die Gefäße mit dem zu untersuchenden Miste tritt, vorher von CO_2 und NH_3 befreit wird und auf diese Art sozusagen eine künstliche Atmosphäre geschaffen wird, verschieden von derjenigen, welche den Mist an seinem natürlichen Aufbewahrungsort aëriert, so kann ich sagen, daß die Abwesenheit von CO_2 in der ins Untersuchungsgefäß eintretenden Luft schwerlich auf die Lebensthätigkeit der Bakterien einen Einfluß haben kann. Erstens darum, weil die CO_2 der Luft nicht als Nährmaterial, zum wenigsten für eine sehr große Mehrzahl von Bakterien (der nicht Pigmente enthaltenden) dient. Zweitens, wenn wir auch zugeben, daß die CO_2 auf irgend welche für uns bis jetzt noch unerklärliche Art auf die Lebensthätigkeit der im Miste vegetierenden Bakterien sich äußert, so wird die Abwesenheit dieser CO_2 schon ganz am Beginne des Versuches reichlich ersetzt durch CO_2, die als Folge der Wirksamkeit der Bakterien selbst auf den Mist erscheint. Was nun den NH_3 anbetrifft, so ist seine Menge in der Luft äußerst gering und kann schwerlich für die Lebensthätigkeit der Bakterien eine Bedeutung haben, außerdem erscheint bei meinen Versuchen, zum mindesten bei einigen Bakterien, NH_3 als Resultat der Lebensthätigkeit der Bakterien selbst. Auf jeden Fall, um sicher zu gehen, wäre ein Kontrollversuch notwendig, bei welchem die Luft ins Gefäß mit dem Mist in ihrer natürlichen Zusammensetzung hineintreten sollte. Endlich, als letzte und allerwichtigste künstliche Bedingung meiner

Versuche, die in der Natur selbstverständlich nicht existieren kann, stellt sich die Sterilisation des Mistes dar, bei welchem in gewissem Maße auch die chemische Zusammensetzung desselben verändert wird. Man kann jedoch voraussetzen, daß diese Veränderungen nicht bedeutende sind; ganz vermeiden lassen sie sich leider nicht, da eine andere Methode, um eine solche Substanz, wie der Mist ist, steril zu machen, uns nicht zugänglich ist, weshalb wir uns damit schon zufrieden geben müssen.

Gehen wir jetzt zu den Versuchen selbst über. In der Tabelle I sind zwei Versuche angeführt, in welchen die zu untersuchenden Portionen Mist, vorher natürlich sterilisiert, einem Oxydationsprozesse ausgesetzt wurden, bloß unter der Einwirkung eines beständigen Luftstromes, der durch den Apparat im Laufe der ganzen Versuchsperiode gesogen wurde, wobei beim ersten Versuche das Untersuchungsobjekt sich bei einer Temperatur von 30—35° C befand, beim zweiten Versuche jedoch bei 50—55° C. Der erste Versuch dauerte 62 Tage, der zweite 28 Tage [1]).

Tabelle I.

Versuch 1, begonnen am 24. Dezember 1893.			Versuch 2, begonnen am 27. Oktober 1894.	
Zeit der Wägungen		Zuwachs von CO_2 in g.	Zeit der Wägungen	Zuwachs von CO_2 in g.
2. Januar 1894		0,098	3. November 1894	0,266
7. „		0,007	10. „	0,120
12. „		0,023	17. „	0,104
17. „		0,019	24. „	0,084
22. „		0,019	Im ganzen an 28 Tagen	0,574
Im ganzen an 29 Tagen		0,166	Die Menge des ausgeschiedenen NH_3 in g	0,007
27. Januar		0,029		
1. Februar		0,011		
6. „		0,008		
11. „		0,007		
16. „		0,002		
21. „		0,042		
24. „		0,063		
Im ganzen an 32 Tagen		0,162		
Die Menge des ausgeschiedenen NH_3 in g	An den ersten 29 Tagen	0,0022		
	An den folgenden 33 Tagen	0.		

Diese beiden Versuche, ebenso wie der analoge Versuch, der in meiner ersten Mitteilung beschrieben ist, sprechen dafür, daß der rein chemische Prozeß der Oxydation des Mistes, einzig unter dem Einflusse des Luftsauerstoffs, sehr gering ist. Im ersten Versuche, während der 29-tägigen Versuchsdauer, war die Menge der gebildeten CO_2 im ganzen bloß 0,166 g, während der folgenden 33 Tage 0,162 g.

1) In allen von mir ausgeführten Versuchen wurde nach Beendigung derselben eine bakteriologische Analyse ausgeführt, die mir die Gewißheit von der Abwesenheit fremder Mikroorganismen gab.

Beim zweiten Versuche, bei noch mehr erhöhter Temperatur, bildeten sich in 28 Tagen 0,574 g CO_2. Diese Ziffer weißt darauf hin, daß bei erhöhter Temperatur der Oxydationsprozeß energischer wird und, wie im gegebenen Falle, um mehr als dreimal zunimmt, wenn auch das Quantum ausgeschiedener CO_2 noch äußerst gering bleibt. Diese Schlußfolgerungen stimmen vollständig überein mit den Behauptungen, welche schon früher durch Gayon, Dehérain und Schloesing ausgesprochen sind, die an der Erforschung der Gärung des Mistes arbeiteten. Was die abgesonderten Mengen NH_3 anbetrifft, so muß man sagen, daß dieselben äußerst gering sind und sich höchst wahrscheinlich schon beim Sterilisationsprozeß des Mistes bildeten, als das Resultat der Einwirkung der hohen Temperatur des Autoklaven auf die Bestandteile des Mistes, d. h. auf Kot und Harn. Versuch 1 weist geradezu darauf hin, da in den ersten 29 Tagen die Anwesenheit von NH_3 konstatiert werden konnte, während in den nächsten 32 Tagen derselbe schon nicht mehr nachweisbar war. Im ersten Versuche muß noch der Umstand notiert werden, daß die Menge CO_2, die in den zwei, annähernd fast gleichen Zeiteinheiten ausgeschieden war, fast gleich war; ein eben solches Quantum CO_2 war auch im analogen Versuche, den ich in meiner ersten Mitteilung beschrieben habe, ausgeschieden worden (in 29 Tagen = 0,161 g). Mit anderen Worten, bei voller Aëration und gleichen Temperaturen sind meine Mistportionen in gleichem Grade den Verbrennungsprozeß unterworfen, was seinerseits auf die bedeutende Gleichartigkeit der zu den Versuchen benutzten Portionen hinweist, die wiederum meine Versuche in den Stand setzt, untereinander verglichen werden zu können, und das letztere in den möglichst geringen Fehlergrenzen. Die zwei folgenden Versuche 3 und 4 (Versuch 3 nehme ich hier aus meiner ersten Mitteilung des beqeumeren Vergleichs halber) wurden mit 2 Portionen Mist ausgeführt, zu welchen nach der Sterilisation je 3 ccm 2-tägiger Bouillonkulturen dreier Bakterien, No. 1, 2 und 3, hinzugefügt wurden, zu 1 ccm von jeder. Die Portionen Mist wurden im dritten Versuche bei 30—35° C gehalten, im vierten Versuche bei 50 bis 55 C. Der dritte Versuch dauerte 29 Tage, der vierte 28 Tage.

Tabelle II.

Versuch 3, begonnen am 7. November 1893.		Versuch 4, begonnen am 22. September 1894.	
Zeit der Wägungen	Zuwachs von CO_2 in g	Zeit der Wägungen	Zuwachs von CO_2 in g
14. November	1,825	29. September	0,444
22. „	1,696	6. Oktober	0,405
29. „	1,657	13. „	0,460
6. Dezember	3,839	20. „	0,437
Im ganzen an 29 Tagen	9,017	Im ganzen an 28 Tagen	1,746
Menge des ausgeschiedenen NH_3 in g: An den ersten 19 Tagen	0,021	Menge des ausgeschiedenen NH_3 in g	0,0051
An den nächsten 10 Tagen	0,004		

Beim Betrachten der Zahlen des dritten Versuches und beim Vergleichen desselben mit den Zahlen der zwei vorhergehenden muß von neuem wiederholt werden, daß der Verbrennungsprozeß der organischen Stoffe im Miste, unter dem Einflusse der Lebensthätigkeit der drei Bakterien, welche am Versuche teilnehmen, bedeutend intensiver vor sich geht, als der Oxydationsprozeß unter dem alleinigen Einflusse des Luftsauerstoffs. Im ersten Versuche verhielt sich der Unterschied annähernd wie 1 : 54, im zweiten Versuche, wo der chemische Oxydationsprozeß unter dem Einflusse der erhöhten Temperatur überhaupt energischer vor sich geht, ist das Verhältnis bloß 1 : 15. Um die Einwirkung der erhöhten Temperatur zu erklären, vergleichen wir den vierten Versuch mit dem zweiten. Dieser Vergleich zeigt uns, daß bei 50—55° C der Verbrennungsprozeß des Mistes mit den Kulturen im ganzen bloß um 3mal energischer vor sich geht, als die Oxydation des Mistes ohne Kulturen, während bei 30—35° C derselbe um 54mal stärker ist. Daraus folgt, daß eine Temperatur von 50—55° C die Lebensthätigkeit der zu untersuchenden Kulturen herabdrückt und folglich auch auf den fermentativen Prozeß einen verlangsamenden Einfluß ausübt. Wenn wir in den Versuchen 3 und 4 aus den Gesamtsummen CO_2 diejenigen Mengen desselben ausscheiden, welche als Resultat eines rein chemischen Prozesses aufzufassen sind, wie z. B. in den Versuchen 1 und 2, so resultiert daraus, daß, bei gleicher Beobachtungsdauer, im dritten Versuche die Menge von CO_2, die sich sogleich bloß als Resultat eines fermentativen Prozesses darstellt, gleich 8,850 sein wird, im vierten Versuche jedoch 1,172. Mit anderen Worten, bei 50—55° C verlangsamt sich der fermentative Prozeß um 7,5mal im Vergleiche mit dem Prozesse, der bei 30—35° C vor sich geht. Also, wenn die Erhöhung der Temperatur von 30—35° C bis auf 50—55° C den rein chemischen Oxydationsprozeß um mehr als dreimal erhöht, so sinkt der fermentative Oxydationsprozeß unserer Mistportionen für die drei gemeinschaftlich wirkenden Bakterien No. 1, 2 und 3 um 7,5mal. Diese niederdrückende Wirkung einer Temperatur von 50—55° C auf die Lebensthätigkeit der Kulturen äußert sich auch durch die Menge des ausgeschiedenen NH_3; im Versuche 4 wurde davon im ganzen 0,0051 g ausgeschieden, d. h. eine eben solche Menge, wie sie sich in den Mistportionen, die nicht mit Kulturen geimpft worden waren, fand. Die Entscheidung, welche von diesen Kulturen und in welchem Maße die hindernde Wirkung einer Temperatur von 50—55° C[1]) auf ihre Entwicklung einwirkt, kann natürlich nur durch besondere Versuche erzielt werden, in welchen jede Kultur für sich besonders zu wirken hätte. Im gegebenen Falle zeigte die nach Beendigung des Versuches ausgeführte bakteriologische Analyse, daß alle 3 Kulturen am Leben waren und, nach den Resultaten der Analyse zu schließen, daß die Kultur 1 über die beiden anderen ein bedeutendes Uebergewicht hatte.

---

1) Betreffs des Versuches 4 ist es übrigens nicht ohne Interesse, zu bemerken, daß die Menge der ausgeschiedenen CO_2 im Laufe der Wochen sich fast nicht ändert. Der Unterschied beträgt bloß $^1/_{100}$ Teile eines g.

Beiläufig muß ich hier jedoch bemerken, daß dieselben Temperaturen, die bei unseren Versuchen auf die beobachteten Kulturen durchaus keine tödliche Wirkung hervorbrachten, bei etwas veränderten Umständen einen derartigen Einfluß ausübten, daß die Kulturen unbedingt zu Grunde gingen. Um dieses zu konstatieren, verfuhr ich derartig, daß zu demselben Mist, der zu den Hauptversuchen gedient hatte und sich in 3 Probierröhrchen befand, nach dem Sterilisieren desselben einige Tropfen Bouillonkultur dieser selben Bakterien hinzugethan wurde, in ein jedes Probierröhrchen jedoch nur zu einer Art. Die Röhrchen wurden über dem Wattepfropfen mit Gummikäppchen geschlossen und in diesem Zustande im Wasserbade bei 50—54° C während eines Monats erhalten. Nach Verlauf dieser Zeit erwies es sich, daß alle 3 Kulturen zu Grunde gegangen waren, sogar die Kultur No. 1, die Endosporen bildet. Es läßt sich voraussetzen, daß zur ungünstigen, für sie hohen Temperatur hier noch hinzukam der Mangel an Luft und die für dieselben ungünstige CO_2-Atmosphäre, die sich in den Probierröhrchen als Resultat ihrer ursprünglichen Lebensthätigkeit angesammelt hatte.

In der folgenden Tabelle III werden die Resultate zweier Versuche 5 und 6 vorgeführt, mit 2 Portionen Mist ausgeführt, zu welchen, nachdem dieselben sterilisiert worden waren, im Versuche 5 Bouillonkultur No. 4, und im Versuche 6 Kultur No. 5, je zu 1 ccm hinzugegeben wurden. Der Mist befand sich während der Beobachtungsdauer bei 30—35° C. Versuch 5 dauerte 63 Tage, Ver-

Tabelle III.

Versuch 5, begonnen am 21. November 1894		Versuch 6, begonnen am 15. März 1895	
Zeit der Wägungen	Zunahme an CO_2 in g	Zeit der Wägungen	Zunahme an CO_2 in g
25. November	2,315	20. März	0,173
29. „	1,447	25. „	0,368
4. Dezember	0,870	30. „	0,361
9. „	0,513	4. April	0,249
14. „	0,351	9. „	0,197
19. „	0,251	14. „	0,142
Im ganzen an 28 Tagen	5,747	Im ganzen an 30 Tagen	1,490
24. Dezember	0,129	19. April	0,122
29. „	0,057	24. „	0,163
3. Januar	0,067	29. „	0,300
8. „	0,125	4. Mai	0,793
13. „	0,183	9. „	0,981
18. „	0,113	Im ganzen an 25 Tagen	2,359
23. „	0,094	Menge des ausgeschiedenen NH_3 in g — Während der ersten 30 Tage	0,0025
Im ganzen an 35 Tagen	0,674	Während der nächsten 25 Tage	0,0018
Menge des ausgeschiedenen NH_3 in g — Während der ersten 28 Tage	0,0192		
Während der folgenden 35 Tage	0,0105		

such 6 dagegen 55 Tage. Beim Versuch 5 wurden am 13. Januar in den Glasapparat mit dem Mist 2 ccm frischer 2-tägiger Bouillonkultur derselben No. 4 hinzugegeben, am 18. Jan. wurden dorthin noch 2 ccm 2-tägiger Bouillonkultur No. 1 hinzugethan. Beim Versuch 6 wurden am 14. April in den Glasapparat mit dem Mist 2 ccm 2-tägiger Bouillonkultur No. 1 hinzugegeben, am 24. April daselbst 2 ccm Bouillonkultur No. 3. In Beifolgendem sind die Resultate verzeichnet.

Aus dieser Tabelle ersieht man, daß die Bakterien No. 4 und 5, ebenso wie die früher beobachteten drei Bakterien No. 1, 2 und 3 sich durch die Fähigkeit auszeichnen, die organischen Stoffe des Mistes zu oxydieren, wobei sie als eines der Produkte dieses Verbrennungsprozesses CO_2 geben. Wenn wir die Mengen der durch alle fünf untersuchten Bakterien auszuscheidenden CO_2 nebeneinanderstellen, so sehen wir, daß No. 4 als der energischste Förderer des Oxydationsprozesses anzusehen ist, da er im Laufe des ersten Monats das Maximum von CO_2, nämlich 5,747 g liefert. Im Gegensatz dazu gilt als der schwächste in dieser Beziehung No. 5, der im Laufe desselben Monats das Maximum CO_2, nämlich 1,490 g abgiebt. Auf diese Art sieht man schon aus einer geringen Anzahl von Versuchen, daß die Energie der Oxydationsthätigkeit der verschiedenen Bakterien ziemlich bedeutend untereinander variiert, indem sie, wie im gegebenen Falle, das Verhältnis von 1 : 4 erreicht. Die Bakterien No. 4 und 5 äußern, ebenso wie die drei ersten Arten, das Maximum ihrer Lebensthätigkeit am Beginn des Versuches, so z. B. No. 4 während der ersten 5 Tage, No. 5 während der zweiten 5 Tage. In der Folge sinkt dieses Maximum beständig, und gegen Ende des zweiten Monats sinkt die Menge der ausgeschiedenen CO_2 bis auf $^1/_{100}$ Teile eines Grammes. Bloß bei No. 4 erschienen vom 8. Jan. ab aus unbekannten Gründen wiederum Mengen von $^1/_{10}$ g, die aber am 23. Jan. aufs neue auf $^1/_{100}$ Teile herabsanken. Was nun das NH_3 betrifft, so steht außer allem Zweifel, daß No. 4 dasselbe produziert, No. 5 höchstwahrscheinlich nicht, da beim Versuche mit dem Mikroorganismus No. 5 die Quantitäten des ausgeschiedenen NH_3 derartig gering sind, daß, wie wir schon früher gesehen haben, dieselben Mengen NH_3 beim Versuche mit gewöhnlichem, sterilem Dünger, ohne jede Teilnahme von Mikroorganismen erhalten wurden.

In diesen zwei hier beschriebenen Versuchen hatte ich übrigens die Absicht, die Lebensthätigkeit derselben Bakterien im Dünger zu beobachten, in welchem vorher schon im Laufe einer mehr oder minder langen Zeitdauer eine derselben vegetiert hatte. Zu diesem Zwecke wurde im Versuche No. 5, nachdem die Kultur No. 4 im Miste schon 53 Tage vegetiert hatte, eine frische Portion derselben Kultur No. 4 hinzugefügt. Es erfolgte gar keine Wirkung, die Menge der sich ausscheidenden CO_2 nahm unverändert ab, infolgedessen wurde, nach einer 5-tägigen Periode, eine neue Impfung von Kultur No. 1 ausgeführt, wobei dasselbe Resultat erschien, die Menge der sich ausscheidenden CO_2 nahm immer weiter ab. Etwas andere Resultate wurden dagegen beim Versuche 6 erhalten: nachdem die Kultur No. 5 im Miste 30 Tage vegetiert hatte, wurde No. 1 hinzu-

gefügt, wobei auch hier durchaus keine Wirkung zu verzeichnen war. (Wenn am 24. April die Menge der ausgeschiedenen CO_2 von 0,112 bis auf 0,163 stieg, so stellt das augenscheinlich eine ebensolche zufällige Schwankung vor, wie wir sie schon beim Versuch 5 beobachtet hatten; jedenfalls hat diese Schwankung nach der Art und Weise ihrer Aeußerung als auch ihrer Menge nach nichts gemein mit den Eigenschaften von No. 1.) Total andere Resultate waren zu verzeichnen, nachdem am 24. April Kultur No. 3 hinzugegeben worden war: die Menge der ausgeschiedenen CO_2 stieg am 24. April bis auf 0,300 g, am 4. Mai auf 0,793 g, am 9. Mai auf 0,981 g. Aus allen diesen Beobachtungen lassen sich folgende Schlüsse ziehen: 1) Wenn im Dünger schon irgend eine Bakterie längere oder kürzere Zeit vegetiert hatte, so ist nicht jede andere Bakterie, obgleich im allgemeinen mit der Fähigkeit begabt, die organischen Bestandteile des Düngers zu oxydieren, imstande, diese ihre Fähigkeit in derartigem Dünger zu äußern; einige von ihnen setzen den Oxydationsprozeß fort, andere nicht. 2) Wenn auch die folgende Bakterie denselben Oxydationsprozeß fortsetzt, so kann man bisher sagen, daß sie es nicht mit der Energie thut, mit welcher sie die organischen Stoffe des Düngers oxydiert, wenn sie den Prozeß selber begonnen hatte. So gab No. 3, als er allein im Dünger vegetierte, in den ersten 5 Tagen 0,142 g, in den nächsten 5 Tagen 0,850 g, und in den weiteren 5 Tagen 1,485 g; hier resultierten blos 0,300—0,793—0,981 g. Von diesen letzten Ziffern muß noch die Menge subtrahiert werden, die auf den Anteil von No. 5 kommen muß, d. h. mindestens 0,1 g von jeder Ziffer.

Jetzt fragt es sich, wie das zu erklären ist. Wenn wir voraussetzen, daß die Kultur selbst, nach einer genügend langen Vegetationsdauer im Mist, allmählich ihre Oxydationsfähigkeit einbüßt, sozusagen altert, so müßte die Hinzufügung einer frischen Kultur derselben Bakterie zu demselben Mist einen neuen, mehr oder weniger intensiveren Oxydationsprozeß hervorrufen. In der That ist dem aber nicht so. Eine derartige Auffrischung durch frische Kultur in meinem 5. Versuche rief durchaus keine Wirkung hervor. Die Voraussetzung, daß für die folgenden Bakterien kein Material zur Oxydation vorhanden ist, kann wohl keine Bedeutung haben, im Versuch 6 hatte die Bakterie No. 5 verhältnismäßig wenig Material verbraucht und dasselbe war augenscheinlich noch im Ueberfluß vorhanden, welchen auch die Bakterie No. 3 sich zu nutze zog, während No. 1 keine Thätigkeit äußerte. Es läßt das natürlich noch eine solche Voraussetzung zu, daß die folgende, in betreff der CO_2-Produktion unthätige Kultur bei den gegebenen Verhältnissen in irgend einer anderen Art auf die Zersetzung des Düngers ihren Einfluß ausüben kann; eine derartige Aenderung ihrer Thätigkeit ist aber wenig wahrscheinlich. Mir scheint es, daß alles dieses folgendermaßen erklärt werden kann: Die ursprüngliche Kultur speichert während ihres Vegetationsprozesses im Dünger die Produkte ihrer Lebensthätigkeit auf, unter derem Einflusse einzelne Bakterien imstande sind zu vegetieren und ihre Funktionen als Oxydationserreger in größerem oder geringerem Maße zu erfüllen, während andere Arten bei solchen

Bedingungen nicht existieren können, ebenso wie die ursprüngliche Bakterie selbst dabei am Ende ihre Lebensfähigkeit einbüßt. Zur weiteren Illustration einer derartigen Anschauung will ich noch folgende Beobachtung anführen: „In einer Petri'schen Schale kultivierte ich auf Agar-Agar den Mikroorganismus No. 5 im Verlaufe einer ganzen Woche (beim Impfen wurde die Kultur über die ganze Oberfläche ausgestrichen); nach Verlauf dieser Woche zog ich die Schicht der gebildeten Kultur von der Oberfläche des Nährsubstrates ab und bestrich an Stelle derselben auf dieselbe Art wie oben die eine Hälfte der Agaroberfläche mit Kultur No. 1, die andere Hälfte mit Kultur No. 3, wobei es sich erwies, daß No. 3 gedieh, die eine Hälfte des Agars überziehend, während die andere Hälfte, auf welche No. 1 aufgetragen worden war, unverändert blieb. Im Probierröhrchen konnte man dasselbe beobachten: auf der schiefen Ebene des Agarröhrchens wurde ein Strich mit Kultur No. 5 hervorgebracht; nach Verlauf einer Woche wurde die Kultur von der Oberfläche abgezogen und auf dieselbe ein Strich mit Kultur No. 1 ausgeführt, wobei kein Wachstum erfolgte. Darauf wurde daneben ein Strich mit Kultur 3 aufgetragen, der nach 2 Tagen zu wachsen begann. Aus allem diesen läßt sich folgern, daß nach dem Wachstum von No. 5 im Mist (ebenso wie nach No. 4) die Kultur No. 1 in einem solchen Mist nicht gedeiht und deshalb auch ihre Oxydationsfähigkeit nicht äußern kann, wobei Kultur No. 3 gedeiht und die organischen Bestandteile des Mistes oxydiert, wenn auch nicht so energisch, wie in dem Falle, wo sie sich allein im Miste befindet.

Nach Beendigung des Versuches No. 6, wie überhaupt bei allen übrigen Versuchen, hatte sich der Mist äußerlich nur wenig verändert, er war etwas gedunkelt, das Stroh war etwas weicher geworden, die Reaktion deutlich alkalisch. (Bei den früheren Versuchen war sie gewöhnlich schwach alkalisch), und was das merkwürdigste ist, der Mist erschien bedeutend trockener, so sehr sogar, daß, während bei allen anderen Versuchen immer am Boden des Gefäßes eine kleine Schicht Flüssigkeit vorhanden war, beim 6. Versuche gar keine Flüssigkeit vorhanden war. Das Mikroskop zeigte im Miste des Versuches 6 die Anwesenheit der Bakterien No. 3 u. 5. No. 1 war nicht vorhanden. Beim Anlegen von Plattenkulturen jedoch erwies es sich, daß, wie beim Versuche 5, so auch beim Versuche 6 die Anzahl der Kolonieen von No. 1 ziemlich bedeutend war, was in gewissem Grade sowohl der mikroskopischen Beobachtung entgegen ist, als auch der Anschauung widerspricht, daß No. 1 nach der Vegetation der Kulturen No. 4 und 5 im Miste überhaupt nicht gedeiht. Wahrscheinlich ließe sich dieses durch irgend welche Zufälligkeit erklären, wie z. B. dadurch, daß die Plattenkultur aus einer Stelle im Mist angelegt wurde, welche von der Bouillonkultur beim Zugeben von No. 1 beim Beginn des Versuches gerade getroffen worden war; möglicherweise ist aber dieser augenscheinliche Widerspruch das Resultat der Fähigkeit von No. 1, schnell und reichlich Endosporen zu bilden, infolgedessen die Versuchsportionen des Mistes, obgleich sie sich mit Bakterien No. 1 anreicherten, in Wirklichkeit wegen des sporenartigen

Charakters des letzteren einer vegatativen und infolgedessen auch oxydierenden Thätigkeit nicht unterliegen konnten.

Zum Schluß führe ich noch zwei Versuche No. 7 und 8 vor, die zu dem Zwecke unternommen wurden, um zu konstatieren, ob die von mir isolierten Bakterien bei ihrer Vegetation in Bouillon imstande waren, derartige Produkte zu liefern, welche (natürlich nicht durch direkte Oxydation, was schwer anzunehmen wäre) in chemische Wechselwirkung mit gewissen Bestandteilen des Düngers tretend, imstande wären, CO_2 und NH_3 zu produzieren. Zu diesem Zwecke wurden zu zwei Kolben mit Bouillonkulturen No. 1 und 4 hinzugegeben; die Kolben standen während 2 Monaten im Thermostaten bei 37—38° C, worauf die Kultur durch ein kleines Chamberland'sches Filter filtriert wurde.

Die durchfiltrierten Bouillonportionen waren vollständig klar, von scharf alkalischer Reaktion, mit einem Geruch, der an Schnupftabak erinnerte. Bouillon No. 1 war sehr dunkel, No. 4 bedeutend heller. Zu zwei Portionen sterilisierten Mistes, bei 30—35° C beim kontinuierlichen Durchsaugen eines Luftstromes, wurde zu einer Portion am 1. März 30 ccm Bouillon No. 1 hinzugegeben (Versuch 7), zur zweiten Portion (Versuch 8) am 3. Febr. 30 ccm Bouillonkultur No. 4. Die Resultate sind in folgendem zusammengestellt:

Versuch 7, begonnen am 18. Februar 1895		Versuch 8, begonnen am 29. Januar 1895	
Zeit der Wägungen	Zuwachs an CO_2 in g	Zeit der Wägungen	Zuwachs an CO_2 in g
23. Februar	0,066	3. Februar	0,077
1. März	0,027	6. "	1,379
6. "	0,718	8. "	1,042
10. "	1,318	11. "	1,045
Menge des ausgeschiedenen NH_3 in g während 20 Tagen	0	13. "	0,474
		Menge des ausgeschiedenen NH_3 in g während 15 Tagen	0,0022

Es ist augenscheinlich, daß die Versuche nicht gelangen, die Filter ließen Bakterien hindurch. Auf diese Art besitzen die angeführten Versuche kein unmittelbares Interesse und ich erlaube sie mir nur deshalb hier anzuführen, um zu zeigen, um wieviel ein und dieselbe Bakterie, bei annähernd ein und denselben Versuchsbedingungen, jedesmal sich identisch erweist, sowohl quantitativ, als auch in qualitativer Beziehung, was nämlich ihre Oxydationsfähigkeit anbetrifft. In diesem Sinne können diese Versuche gewissermaßen als Hinweisung dienen, da die bakteriologische Analyse, nach Beendigung des Versuches ausgeführt, zeigte, daß beim Versuch No. 7 im Miste Kultur No 1 vegetierte, beim Versuche No. 8 dagegen die Kultur No. 4, d. h. dieselben Kulturen, mit welchen wir schon zu thun gehabt hatten. Also, beim Zusammenstellen der ziffernmäßigen Resultate der Versuche 7 und 8 mit den Resultaten des Versuches No. 5 und des Versuches, in welchem No. 1 teilnahm (siehe meine erste Mitteilung) ergaben sich folgende Resultate:

Bakterien No. 4.

Versuch 8. In den ersten 5 Tagen wurde CO_2 ausgeschieden 2,241 g, in den folgenden 5 Tagen 1,519 g

Versuch 5. In den ersten 4 Tagen wurde CO_2 ausgeschieden 2,315 g, in den folgenden 4 Tagen 1,447 g.

Bakterien No. 1.

Versuch 7. In den ersten 5 Tagen wurde CO_2 ausgeschieden 0,718 g, in den folgenden 4 Tagen 1,318 g

Versuch mit No. 1. In den ersten 5 Tagen wurde CO_2 ausgeschieden 0,413 g, in den folgenden 5 Tagen 1,020 g.

Aus dieser Zusammenstellung läßt es sich nicht unschwer ersehen, daß ein und derselbe Mikroorganismus, unter ein und denselben Bedingungen (natürlich blos annähernden, da die Versuche 7 u. 8 schon in sofern von den früheren differieren, daß sie im Miste 30 ccm Bouillon enthalten) jedesmal ein und denselben Energiegrad des Oxydationsprozesses äußert, sowohl in qualitativer, als auch in quantitativer Beziehung. Die Mengen der ausgeschiedenen CO_2 sind in den Vergleichungsversuchen annähernd ein und dieselben; dem Charakter der Kohlensäureausscheidung nach sind alle Vergleichungsversuche identisch. Die Kultur No. 4 im Versuche No. 5 schied das Maximum CO_2 während der ersten 5 Tage aus; ebenso fällt auch im Versuche 8 das Maximum der CO_2-Ausscheidung auf die ersten 5 Tage. Dasselbe kann man auch in Betreff der Kultur No. 1 sagen, zum Mindesten läßt sich voraussetzen, daß im Versuch No. 7 die Menge der ausgeschiedenen CO_2 während der zweiten 4 Tage das Maximum darstellt. (Wie aus der Tabelle zu ersehen ist, wurde der Versuch nicht weiter fortgesetzt). In demselben Sinne sprechen auch die Resultate des Versuches No. 6, in welchem nach dem Hinzufügen der Kultur No. 3 zum Miste die CO_2-Ausscheidung in gewissem Grade der Quantität nach wie auch hauptsächlich nach dem Charakter der Ausscheidung sich in bedeutendem Maße dem Versuche nähert, in welchem die Bakterie No. 3 allein vegetierte. Mit einem Worte, ein und dieselbe Bakterie äußert bei annähernd gleichen Bedingungen, im Falle ihrer Entwicklung im Miste kein Hindernis entgegensteht, jedesmal ein und dieselbe Energiestufe des Oxydationsprozesses, was sowohl den Verlauf, als auch die Intensität desselben anbetrifft. Diese Gleichmäßigkeit fällt so sehr in die Augen, daß schon nach den ersten CO_2-Bestimmungen es sich sagen läßt, mit welcher Bakterie man im Miste zu thun hat. Hiermit schließe ich meine zweite Mitteilung.

16. Juli 1895.

Original-Referate aus bakteriologischen und gärungsphysiologischen Instituten, Laboratorien etc.

Sind die Hefen Frohberg und Saaz der Berliner Brauerei-Versuchsstation Hefetypen im physiologischen Sinne?

[Mitteilungen aus der vom kgl. bayer. Staate subv. Versuchsstation für Bierbrauerei zu Nürnberg.]

Von

Dr. E. Prior.

Mit 1 Figur.

(Schluß.)

Erklärung des unterschiedlichen Verhaltens der Hefen Frohberg und Saaz bei der Vergärung von Würzen bis zu dem „überhaupt erreichbaren Endvergärungsgrad".

In der mehrfach erwähnten Arbeit von Irmisch sind auch Versuche mitgeteilt worden, nach welchen es nicht gelungen ist, die Hefe Saaz zur höheren Vergärung, bezw. zu gleich hoher Vergärung wie Frohberg zu bringen.

Der Grund hierfür ist der, daß Irmisch die flüchtigen Gärungsprodukte nicht vollständig während der Gärung entfernte und eine wesentliche Bedingung, die Durchlüftung und Bewegung während der Gärung, nur in Intervallen anwandte oder zu kurze Zeit wirken ließ. Er wäre anderenfalls zu dem nämlichen Resultat gekommen, wie ich.

Nachdem nun meine Versuche ergeben haben, daß beide Hefen die fünf Würzezucker (Saccharose, Dextrose, Lävulose, Maltose und Isomaltose) unter passend gewählten Bedingungen vollständig, unter den Berliner günstigen Bedingungen jedoch nur teilweise vergären, zeigen die Hefen Frohberg und Saaz bei 25° C im Thermostaten das nämliche Verhalten, wie andere, bei dieser Temperatur die Würzen gleich hoch vergärenden Hefen bei niederer Temperatur unter den Bedingungen, unter welchen in der Brauerei die Hauptgärung geführt wird.

Das Verhalten von 17 Heferassen gegen dieselbe Bierwürze bei 25° C im Thermostaten, das ich s. Z. geprüft habe [1]), hatte für alle, mit Ausnahme der Berliner Hefe Saaz und der Nürnberger Hefe L, das nämliche Resultat ergeben.

Nach meiner Ansicht muß der Ausnahme, welche die Hefen Saaz und die Nürnberger Hefe L bilden, dieselbe Ursache zu Grunde liegen, welche Veranlassung ist, daß zwei bei 25° C sich gleich ver-

1) Bayer. Brauerjournal, IV, p. 518.

haltende Hefen, z. B. Karlsberg I und Karlsberg II, bei niederer Temperatur in der Hauptgärung Verschiedenheiten aufweisen. Und nur diejenige Theorie nähert sich der Wahrheit, welche diese Erscheinungen in gleicher Weise ungezwungen erklärt.

Die von Hansen mitgeteilte Beobachtung, daß Hefe Karlsberg I im Bottich der Brauerei höher vergärt als Karlsberg II, kann nicht auf Unterschiede in den Enzymen dieser Hefen bezw. auf ein verschiedenes Verhalten der Würzeisomaltose gegenüber zurückgeführt werden, da dieselben nach meinen Versuchen bei 25° C Bierwürzen gleich weit vergären. Die Hypothese von Delbrück, Bau, Munsche u. a. würde daher, selbst wenn sie für die Hefen Frohberg und Saaz Geltung hätte, was jedoch nachgewiesenermaßen nicht zutrifft, das unterschiedliche Verhalten der Karlsberger und anderer Kulturhefen im Bottich nicht zu erklären vermögen.

Krieger sucht durch Unterschiede in der Enzymwirkung (a. a. O.) das verschiedene Verhalten der Hefen Frohberg und Saaz zu erklären. Derselbe sagt: „In den Hefen vom Typus Frohberg ist ein Enzym enthalten, welches die unvergärbare Isomaltose langsam, aber vollständig in eine leicht vergärbare Zuckerart umwandelt. In den Hefen vom Typus Saaz ist ein solches Enzym in viel geringerem Maße wirksam vorhanden."

Diese Erklärung hätte viel für sich, wenn die Hefen vom Typus Frohberg auch bei niederer Gärtemperatur im Bottich sich in Bezug auf Vergärungsgrad ebenso verhielten wie bei 25° C, denn es ist nicht recht einzusehen, warum die Hefeglykase sich bei gleichen, aber niederen Temperaturen in der einen Hefe anders als in der anderen verhalten sollte.

Ferner spricht die Gärungsenergie der Hefen gegenüber Rohrzucker und Dextrose gegen diese Erklärungsweise, weil bei deren Vergärung die Wirksamkeit des Maltose und Isomaltose spaltenden Enzymes, der Hefeglykase Fischer's, gar nicht in Betracht kommt. Bei der Vergärung von Rohrzucker ist das bekannte Invertin das wirksame Agens, bei der Vergärung der direkt vergärbaren Dextrose kommt auch dieses nicht einmal in Betracht.

Nun lehren aber meine Versuche, die Bestimmung der Gärungsenergie von 17 Hefen mit Rohrzucker, sowie der Hefen Frohberg, Saaz und Karlsberg II auch mit Dextrose, Lävulose und Maltose, daß die Gärungsenergie von dem verschiedenen Diffusionsvermögen des genannten Zuckers abhängt, wonach Rohrzucker am leichtesten, dann in abnehmender Reihenfolge Dextrose, Lävulose und Maltose durch die Zellen der untersuchten Hefen diffundieren, daß aber auch zwischen der nach der Meißl'schen Methode ermittelten Gärungsenergie von den verschiedenen Hefen verschiedene Mengen Zucker in derselben Zeit unter den nämlichen Bedingungen assimiliert und vergoren werden.

Die Resultate für die drei Hefen Frohberg, Saaz und Karlsberg II finden sich in der folgenden Tabelle zusammengestellt:

	Gärungsenergie			
	Rohrzucker	Dextrose	Lävulose	Maltose
Hefe Frohberg	170,57	157,05	149,16	128,27
„ Saaz	113,07	66,06	61,44	44,62
„ Karlsberg II . .	106,13	87,09	73,67	69,71

Dieses Ergebnis ist durch verschiedene enzymatische Wirkung um so weniger zu erklären, als die Bestimmungen bei der günstigsten Gärtemperatur von 30° C vorgenommen wurden und Hefe Karlsberg II bei 25° C ohne Rücksicht auf die Zeit dieselbe Arbeitsleistung vollbringt wie Hefe Frohberg und, wie schon erwähnt, bei Dextrose und Lävulose Enzymwirkungen überhaupt nicht und bei Rohrzucker nur das Invertin in Wirksamkeit tritt.

Man ist daher nicht in der Lage, das Verhalten der geprüften Hefe ohne Zuhilfenahme der in Betracht kommenden physikalischen Gesetze erklären zu können. Dagegen erklären sich die Versuchsergebnisse und die Erscheinungen, welche die Hefen in der Praxis zeigen, leicht und ungezwungen, wenn man die von mir in meiner physikalisch-chemischen Erklärung der Gärungserscheinungen aufgeführten Einflüsse, insbesondere das verschiedene Durchlässigkeitsvermögen der Hefen, berücksichtigt.

Von den drei Hefen besitzt Frohberg das größte Durchlässigkeitsvermögen, während dasjenige von Saaz und Karlsberg II geringer ist.

Bei der Hauptgärung in der Brauerei wird deshalb Frohberg die Würze höher vergären als Karlsberg II und diese wieder etwas höher als Saaz.

Wird die Gärung bei 25° C durchgeführt ohne Rücksicht auf die Zeit, also bis zum Berliner überhaupt erreichbaren Endvergärungsgrad, so vergärt Karlsberg II ebensoviel Rohmaltose als Frohberg. Nur Saaz bleibt um etwa 7 Proz. zurück, was z. T. auf die erheblich schwierigere Diffusion der Isomaltose im Gegensatz zu den anderen Zuckern zurückzuführen ist. Ich habe das Verhalten der Isomaltose noch nicht geprüft, hoffe dies aber demnächst nachholen zu können.

Außerdem hat meine Gärungsmethode noch ein neues, auf die Gärungen nachteilig einwirkendes Moment kennen gelehrt, das ist der Einfluß der flüchtigen Gärungsprodukte.

Ich will gleich hier bemerken, daß damit aber noch keineswegs gesagt sein soll, daß die nichtflüchtigen Gärungsprodukte der Hefen, wenn auch vielleicht nicht in dem Maße wie die flüchtigen, ohne Einfluß auf die Gärwirkung der Hefen seien.

Den flüchtigen Gärungsprodukten dürfte es zuzuschreiben sein, daß die Hefe Frohberg und ebenso die 15 anderen von mir geprüften Heferassen, welche gleichviel Zucker vergoren haben, bei 25° C bis zum überhaupt erreichbaren Entvergärungsgrad, nicht sämtliche vergärbare Zucker der Würze zu vergären vermochten, sondern dies nur, ebenso wie Saaz, fertig bringen, wenn stark gelüftet wird und die flüchtigen Gärungsprodukte während der Gärung entfernt werden.

Doch werden die Hefen Frohberg und die ihr in der Arbeitsleistung unter gewöhnlichen Bedingungen bei 25° C gleichkommenden Hefen, also auch Karlsberg II, nicht in dem Maße von den Gärungsprodukten beeinflußt, als Hefe Saaz.

Durch Herstellung der günstigsten Gärungsbedingungen, wie das bei meiner Methode der Fall ist, wird die Gärtüchtigkeit der

Hefen zur höchsten Leistung gebracht und werden die ungünstigen Einflüsse thunlichst beseitigt.

Es wird — und ein Versuch Bau's, wonach Durchleitung von Luft die Inversion der Maltose durch Hefeglykase zu begünstigen scheint, spricht dafür — infolge der energischen Lüftung während der Gärung die enzymatische Wirkung der Hefen wahrscheinlich begünstigt, möglicherweise auch mehr Hefeglykase gebildet, als dies bei der gewöhnlichen Gärführung der Fall ist. Es wird dies sicher zutreffen, wenn die Hefeglykase ein Oxydationsprodukt gewisser Stickstoffsubstanzen ist, wie dies Lintner für die Diastase annimmt.

Ob das Durchlässigkeitsvermögen ebenfalls eine Erhöhung erfährt, muß noch durch besondere Versuche festgestellt werden. Auch das wäre nicht unmöglich, da bekanntlich die lebende Zelle, wenn auch im allgemeinen, doch nicht unter allen Verhältnissen den endesmotischen Gesetzen genau Folge leistet.

Soviel steht aber fest, daß die Zufuhr von lebendiger Kraft, welche die Auslösung der Gärung bewirkt und die Quelle für die von dem lebendem Protoplasma während der Gärung erzeugte Spannkraft bildet, unter den von mir gewählten Gärungsbedingungen größer ist und die Zelle befähigt, gärungshemmende Einflüsse in höherem Maße zu überwinden, als bei der gewöhnlichen Gärführung.

Wenn auch die von mir entwickelte Theorie noch Mängel, ja vielleicht auch Irrtümer aufweist und es noch vieler Versuche bedarf, dieselbe nach allen Richtungen auszubauen, so gestattet dieselbe doch, die Gärungserscheinungen, wie wir sie im Laboratorium und der Brauerei beobachten, durch Zusammenfassung der bislang bekannten Thatsachen in einfacher und befriedigender Weise zu erklären.

Daß wir von dem letzten Ziel der Forschung noch weit entfernt sind und dies auch erst dann erreichen werden, wenn wir einen tieferen Einblick in die anatomische Beschaffenheit und die Natur des Plasmas erlangt und sozusagen die Funktion der einzelnen Plasmaorgane kennen gelernt haben werden, davon kann niemand fester überzeugt sein als ich selbst.

Es würde uns aber diesem erstrebenswerten Ziele nicht näher bringen, wollten wir zuwarten, bis die Anatomie der Hefezelle weitere Fortschritte gemacht hat oder gar endgültig erforscht ist und die Arbeit einstellen, weil sich später manches als unrichtig erweisen könnte.

Der Naturforscher muß sich mit dem Bewußtsein trösten und Befriedigung finden, bei der Erforschung nach Wahrheit ein Steinchen in den großen Bau eingefügt zu haben. Auch die gärungsphysiologischen Arbeiten der Berliner Station haben dazu beigetragen, uns in der Erkenntnis der Gärungserscheinungen ein Stück vorwärts zu bringen, und das ist ein großes bleibendes Verdienst, welches durch meine, auf den Berliner Arbeiten zum großen Teil fußenden Forschungen und dadurch, daß dieselben zu einem anderen Ergebnis geführt haben, in keiner Weise beeinträchtigt wird.

Referate.

Renault, B. et **Bertrand, C. Eg.**, Sur une bactérie coprophile de l'époque permienne. (La médecine moderne. 1894. No. 70.)

„Gigantische fossile Mikroben" (?). — Vor kurzer Zeit machten Renault und Bertrand in Paris in der „Académie des sciences" die Mitteilung, daß es ihnen nach langjährigen wiederholten Untersuchungen von Koprolithen im Enddarme fossiler Fische aus der Permschen Formation gelungen sei, unzählige Formen verschiedener fossiler Bakterien zu finden. Von den mikroskopischen Bildern dieser fossilen Bakterien machten sie auch für ihre Mitteilungen ziemlich deutliche Photographieen. Die häufigste Form von diesen Mikroben sollen 14—16 μ lange und 2—3—5 μ dicke Stäbchen sein, die häufig zu zweien geordnet sind. Dieselben sind entweder etwas gekrümmt oder spirillenförmig, öfters auch in Ketten gereiht. Chemische Analyse ergab phosphorsauren Kalk. Wegen ihrer außergewöhnlichen Größe können diese Bakterien der Permschen Formation mit keiner uns heute bekannten Form verglichen werden. Ihre außergewöhnliche Größe erklären Renault und Bertrand dadurch, daß auch die Dimensionen aller fossiler Tiere und Pflanzen bedeutend größer sind als in der Tier- und Pflanzenwelt von heute.

Kasparek (Wien).

Bolton, Meade, The effects of various metals on the growth of certain bacteria. [From the pathological laboratory, Johns Hopkins University.] (International medical Magazine for December 1894.)

Verf. prüfte nach dem Vorgange von Nägeli, Miller, Behring und Uffelmann den Einfluß verschiedener Metalle auf das Wachstum von Bakterien. Er benutzte Agarplatten, welche die zu prüfende Kulturmasse enthielten, und legte auf die fertigen Platten Metallstückchen. Es wurde geprüft: Kupfer, Messing, Silber, Gold, Magnesium, Zink, Kadmium, Quecksilber, Aluminium, Silicium, Niobium, Antimon, Wismuth, Eisen, Platin, Nickel u. a., und zwar überwiegend in chemisch reiner Form. Von diesen wirkten besonders Zink, Kadmium, Quecksilber und Antimon insofern wachstumshemmend, als die Umgebung der Metallstückchen auf mehr oder weniger große Entfernungen steril blieb. Die sterile Zone war bisweilen von einer oder mehreren Zonen begrenzt, in der das Bakterienwachstum besonders reichlich war, üppiger als auf den übrigen Teilen der Platten. Aluminium, Silicium, Niobium, Platin hatten keine hemmende Wirkung, während Gold nur dann etwas wirkt, wenn es nicht frisch geglüht war. Die einschränkende bezw. hemmende Wirkung soll dadurch zu Stande kommen, daß das Metall teilweise im Nährboden gelöst wird.

Lösener (Stettin).

Lintner, C. J. und **Düll, G.**, Ueber den Abbau der Stärke durch die Wirkung der Oxalsäure. (Ber. d. Deutsch. chem. Ges. Bd. XXVIII. Heft 12.)

Die Autoren haben schon in einer früheren Abhandlung über den Abbau der Stärke durch die Wirkung der Diastase berichtet. Nach der ausführlichen Beschreibung der mit Oxalsäure erhaltenen Spaltungsprodukte stellen die Autoren die beiden Reihen der Produkte zusammen. Es wurden erhalten:

mit Oxalsäure:	mit Diastase:
Amylodextrin	Amylodextrin
Erythrodextrin I	Erythrodextrin I
Erythrodextrin IIα	—
Erythrodextrin IIβ	—
Achroodextrin I	Achroodextrin I
Achroodextrin II	Achroodextrin II
Isomaltose	Isomaltose
—	Maltose
Dextrose	—

Es folgt aus der Zusammenstellung der beiden Reihen, daß die beiden hydrolytisch-spaltenden Prozesse sich dadurch unterscheiden, „daß bei dem einen (Säure-)Prozesse keine Maltose und als Endprodukt der Hydrolyse Dextrose gebildet wird, während bei dem anderen (dem diastatischen) Maltose, und zwar als Endprodukt entsteht“. A. Wróblewski (Krakau).

Jörgensen, Alfred, Ueber den Ursprung der Alkoholhefen. [Berichte des Gärungsphysiolog. Laboratoriums von Alfred Jörgensen zu Kopenhagen I. 1895. Mit 11 Abbildungen]. Kopenhagen (Aug. Bang's Buchhandlung, Vesterbrogade) 1895.

Obige Abhandlung enthält eine ausführliche, von Abbildungen begleitete Erörterung der Entwickelungsgeschichte einer auf Weinbeeren allgemein auftretenden Schimmelform (Dematium-ähnlich) [1]. Verf. zeigt, wie es ihm mittelst einer von ihm angewendeten Methode, Züchtung auf dem natürlichen Nährboden, gelungen ist, den genannten Pilz durch eine Reihe verschiedener Uebergangsformen dazu zu bringen, Zellen mit endogener Sporenbildung zu entwickeln. Diese Sporen bringen beim Keimen echte ellipsoïdische Saccharomyceszellen hervor, welche im Moste Gärung erregen und zum Hervorbringen endogener Sporen gebracht werden können. Eine Umwandlung dieser Saccharomyceszellen in Schimmelvegetation gelang bisher nicht. J. Chr. Holm (Kopenhagen).

Wortmann, Jul., Anwendung und Wirkung reiner Hefen in der Weinbereitung. 8°. 62 p. und 12 Textabbildungen. Berlin (P. Parey) 1895.

Das Werkchen behandelt in gemeinverständlicher Form alles das, was für den Praktiker über die Gärung und die Hefe und den gegenwärtigen Stand unserer Erfahrungen mit der Reinhefe in der

1) Vorläufige Mitteilung hierüber siehe Centralbl. für Bakt. II. No. 9. 1895.

Weinbereitung zu wissen wünschenswert ist. Nach einer kurzen Einleitung werden in 8 Abschnitten folgende einzelne Fragen resp. Punkte behandelt, aus denen der Inhalt vollständig ersichtlich ist: 1) Was ist Hefe? 2) Woher kommt die Hefe? 3) Die Veränderungen, welche die Hefe im Moste bewirkt; 4) Das Vorkommen von anderen Organismen im Moste; 5) Verschiedene Rassen der Hefe; 6) Die Verwendung der Reinhefe in der Praxis; 7) Das Verfahren der Anwendung der reinen Hefe. Eine Aufzählung der wichtigsten, den Gegenstand betreffenden Litteratur bildet den Beschluß des Büchleins. Jörgensens Angaben bezüglich der Herkunft der Hefe haben, da das Büchlein früher erschien als Jörgensens Mitteilungen, noch keine Erwähnung in demselben gefunden. Das Verdienst des Werkchens liegt namentlich darin, daß es dem Praktiker eine klare Darstellung der Vorteile des Hefezusatzes, speziell des Reinhefezusatzes giebt, und daß es gleichzeitig die an dieses Verfahren geknüpften Erwartungen in die rechten Grenzen weist. Es zeigt an der Hand von meist eigenen Erfahrungen, was sich durch die neue Vergärungsmethode erreichen läßt und warnt andererseits vor überschwänglichen Hoffnungen, und es zeigt gleichzeitig, wie das Erreichbare wirklich erreicht werden kann. Aderhold (Proskau).

Leufvén, Gust. J., Einfluß der Melkung auf den Bakteriengehalt der Milch. (Redogörelse för verksamheten vid Ultuna landtbruksinstitut år 1894. p. 38—39.) Upsala 1895.

Flache. sterile Glasdosen von 10 cm Diameter wurden je 1 Sekunde lang in geöffnetem Zustande während der Melkung gerade über den Rand des Milcheimers gehalten und wurde sowohl beim Anfange wie am Schlusse der Melkung eine Probe genommen. Von den drei Kühen wurde die eine (I) sowohl am Euter als an den naheliegenden Partieen gründlich gewaschen und dann getrocknet; der zweiten (II) wurde das Euter in gewöhnlicher Weise mit einem trockenen Handtuche getrocknet; die dritte Kuh (III) wurde ohne Vorbereitungen gemolken.

Folgende Zahlen geben die Anzahl der Bakterien pro 1 □ dcm Oberfläche in der Glasdose:

	Kuh No. I	Kuh No. II	Kuh No. III
Anfang der Melkung	47	109	1210
Schluß der Melkung	107	87	101

John Sebelien (Aas, Norwegen).

Miyoshi, M., Die Durchbohrung von Membranen durch Pilzfäden. (Jahrb. f. wiss. Botanik. Bd. XXVIII. 1895. p. 269—289. Mit 3 Textfig.)

Verf. hat es sich zur Aufgabe gemacht, die verschiedenen Faktoren klarzulegen, welche beim Eindringen von Pilzhyphen, besonders Keimschläuchen, in Pflanzen und Tiere eine Rolle spielen; aus einer solchen Erkenntnis würden auch Schlüsse zu ziehen sein auf die Ursache, warum nur gewisse Pflanzen und unter gewissen Umständen

von Pilzen befallen werden, und würde sich die Möglichkeit ergeben, auf künstlichem Wege jeden Pilz zum Eindringen in Pflanzen zu bewegen, was wiederum für wissenschaftliche und praktische Studien wichtig sein kann. — Nach der Litteratur wird die Methodik behandelt. Die zu prüfende Haut wird auf einen Nährboden (Gelatine u. a.) gelegt und die Sporen werden direkt auf die Haut oder auf eine darüberliegende Schicht nährstoffarmer Gelatine gesäet. Die Nährgelatine ist auf Deckgläschen aufgetragen; zu Versuchen werden besonders Botrytis cinerea und Penicillium glaucum verwendet. — Die Pilzfäden dringen nicht durch die Haut, wenn nicht von unten ein chemischer Reiz auf sie wirkt. Durchbohrt wurden folgende Stoffe: Cellulosehaut, Zwiebelschalenepidermis, Blatt von Tradescantia discolor, Collodiumhaut, mit Paraffin imprägnierte Cellulosehaut, Pergamentpapier, Hollundermark, Kork, Fichtenholz (die Schließhäute der Tüpfel), Chitinhaut (diese aber von anderen als den oben genannten Pilzen). Bei der Durchbohrung zeigt sich zuerst die Bildung von Haftorganen, dann Entwickelung der Infektionsfäden und schließlich das Einwachsen der letzteren in das Innere; die Haftorganbildung kann auch unterbleiben; sie wird beschleunigt und verstärkt mit der Zunahme des chemotropischen Reizes. Während die Fäden gewöhnlich an der Durchbohrungsstelle verschmälert werden, zeigen die von Penicillium in dickerer Collodiumhaut eine beträchtliche Anschwellung. Daß Pilzfäden auch bloß durch den mechanischen Effekt beim Wachstum die Durchbohrung einer Haut bewirken können, zeigen die Versuche mit Goldblättchen, bei denen Verf. sicher ist, daß die Fäden nicht präformierte Löcher benutzen; er bestimmt die zur Durchbohrung nötige Kraft auf ca. $^1/_{10}$ Atmosphäre, glaubt aber, daß Pilzfäden unter Umständen Druckwirkungen bis zu 7 und mehr Atmosphären nach außen entwickeln können. Das Anhaften der Hyphen an der Haut und die Haftorgane bilden das zur Druckwirkung nötige Widerlager. Meistens erleichtern natürlich die chemischen Wirkungen der Pilzfäden durch Erweichung oder Auflösung der Membran das Eindringen. Die lösenden Enzyme sind bei verschiedenen Pilzen ungleich, doch kann dieselbe Pilzart verschiedene Enzyme abscheiden, wenn sie verschiedene Häute bei der Durchbohrung zur Lösung bringt.

Möbius (Frankfurt a. M.).

Hennings, P., Die wichtigsten Pilzkrankheiten der Kulturpflanzen unserer Kolonieen. (Deutsche Kolonialzeitung. 1895. 1. Juni.)

Es ist für die Entwickelung des Plantagenbaues in unseren Kolonieen von Wichtigkeit, daß von fachmännischer Seite einmal eine kurze Zusammenstellung der wichtigsten Pilzkrankheiten gegeben wird, welche unter den Kulturpflanzen größeren Schaden verursachen. In der Einleitung werden einige statistische Notizen über die Schädigungen, welche einzelne Krankheiten verursachen, gegeben, sowie über die Verbreitung solcher Krankheiten einiges mitgeteilt.

Darauf bespricht Verf. die wichtigeren Pilze, die auf den Kulturpflanzen sich finden, und giebt die Bekämpfungsmittel an. Auf Kaffee

kommen außer Hemileia vastatrix, welche bei weitem die größten Verheerungen anrichtet, noch eine größere Anzahl von Pilzen (meist Fungi imperfecti) vor, welche den Fruchtertrag des Baumes mehr oder weniger schädigen. Auf Vanille richtet Calospora Vanillae großen Schaden an. Die Getreidepflanzen werden von einer großen Zahl von Brand- und Rostarten befallen, durch welche die Ernte ganz vernichtet werden kann. Dolichos, Arachis, Manihot, Gossypium, Canavalia u. s. w. werden ebenfalls von einer Anzahl schädlicher Pilze befallen. In betreff der Einzelheiten ist der Artikel selbst zu vergleichen. Lindau (Berlin).

Patterson, Mrs. **F. W.,** A study of North American parasitics Exsoasceae. (Bulletin from the Laboratories of Natural History of the State University of Iowa. Vol. III. No. 3. p. 89—135. Pl. 4. 1895.)

Verf. schildert kurz die Verwandtschaften der Exoasceen und giebt dann eine Beschreibung des Entwicklungsgangs und der Deformationen, welche von diesen Pilzen hervorgerufen werden. Eine Uebersetzung von Sadebeck's Charakterisierung der Genera und eine kurze Synopsis der Species wird gegeben. Exoascus Pruni Fuckel erzeugt eine Deformation des Fruchtknotens von Prunus domestica und P. Virginiana, sowie der Blütenteile der letzteren. E. communis Sadebeck bringt auf Prunus americana, P. maritima, P. pumila, P. nigra, P. subcordata und auf der „De Soto"-Pflaume, einer kultivierten Form von P. americana, dieselbe Gewebewucherung des Fruchtknotens hervor, wie E. Farlowii Sadebeck auf P. serotina. E. Cerasi (Fuckel) Sadebeck kommt auf Blättern von P. serotina, P. avium, P. americana, P. hortulana, P. pennsylvanica, P. virginiana und P. demissa vor und erzeugt auf den Zweigen verschiedene Deformationen, Hexenbesen u. s. w. Eingehendere Untersuchungen, als wie Verf. sie giebt, würden wohl ergeben, daß diese Formen vielleicht in mehrere Species zerteilt werden müßten. E. purpurascens (Ellis & Everhart) Sadebeck, auf Blättern von Rhus copallina; E. deformans (Berk.) Fuckel, auf Blättern von Prunus persica und P. chicasa; E. bacteriospermus (Johanson) Sadebeck, auf Blättern von Betula nana (Greenland) und B. glandulosa (Massachusetts) erzeugt die sog. Kräuselkrankheit. E. amentorum Sadebeck ruft große Verunstaltungen auf den Schuppen der weiblichen Kätzchen von Alnus incana, A. serrulata und A. rubra hervor.

Taphrina aurea erzeugt rundliche, aufgetriebene Stellen auf Blättern von Populus betulifolia, P. Petrovskii, P. certinensis, P. fastigiata, und P. dilatata. Die Flecken verändern sich auf den verschiedenen Species von Populus, und die Ascen finden sich sowohl auf der oberen als der unteren Seite vor. T. carnea Johanson wird zwar beschrieben, ist aber von der Verf. nicht untersucht worden. T. coerulescens (Mont. & Desm.) Tulasne ergreift in ähnlicher Weise Blätter von Quercus coccinia und ihrer var. tinctoria, Q. falcata, Q. alba, Q. phellos,

Q. Douglasii, Q. aquatica, Q. laurifolia, Q. nigra und wahrscheinlich auch von Q. cinerea, Q. rubra, Q. agrifolia und von Castanopsis in Californien. Blätter von Q. macrocarpa, in Wisconsin gesammelt, scheinen von T. extensa Peck ergriffen zu sein, welche Verf. auf Grund ihrer Untersuchungen für T. coerulescens hält. Eine neue Species, T. virginica Sadebeck & Seymour aus West-Virginia und Indiana, welche rundliche, blasig aufgetriebene Stellen auf Blättern von Ostrya virginica hervorruft, wird beschrieben. T. Ulmi (Fuckel) Johanson kommt auf Blättern von Ulmus americana vor.

Magnusiella Potentillae (Farlow) Sadebeck erzeugt gelbliche, blasig aufgetriebene Stellen auf Blättern von Potentilla canadensis, während M. flava (Farlow) Sadebeck kleine gelbliche Flecken auf Blättern von Betula populifolia bildet.

Unter „Addenda" wird Exoascus deformans var. Aesculi Ellis & Everhart zur Species erhoben; er ergreift Blätter und junge Zweige von Aesculus californica.

Kurze Kapitel der Species „inquirendae" und „excludendae" und ein Verzeichnis der Pilzspecies mit ihren amerikanischen Wirten schließen den Aufsatz. Geo. F. Atkinson (Ithaca).

Herzberg, P., Vergleichende Untersuchungen über landwirtschaftlich wichtige Flugbrandarten. (Separatabdruck aus Zopf's „Beiträge zur Morphologie und Physiologie niederer Organismen" aus dem kryptogamischen Laboratorium der Universität Halle.) Leipzig (Arthur Felix) 1895.

Die Erweiterung der Kenntnis von dem Wesen und den Eigenschaften niederer Organismen hat eine schärfere Unterscheidung der Formen derselben nötig gemacht. So mußten in neuerer Zeit auch gewisse Pilzspezies mit phytopathogenem Charakter in mehrere Arten gespalten werden.

Das gilt namentlich von dem auf unsern Kulturgräsern parasitierenden Flugbrand, Ustilago Carbo D. C. Nach den nach dieser Richtung angestellten Untersuchungen verschiedener Autoren ist die de Candoll'sche Art bereits in 7 verschiedene Species gespalten worden. Verf. hat es nun unternommen, diese weitgehende Spaltung durch vergleichende morphologische und physiologische Forschungen, und zwar mittelst Reinkulturen, auf ihre Berechtigung zu prüfen. Zur Untersuchung wurden, da zur Zeit der Bearbeitung dieser Fragen Ust. Kolleri Wille und Ust. medians Biedenkopf noch nicht bekannt waren, folgende fünf Species herangezogen: Ust. Jensenii Rostr., Ust. avenae Pers., Ust. perennans Rostr., Ust. Tritici Pers. — Rostr. und Ust. Hordei Rostr.

Was nun den morphologischen Teil betrifft, so untersuchte Herzberg zunächst die Beschaffenheit der Dauersporen dieser 5 Species. Nach den angestellten Messungen besitzt Ust. Jensenii die größten, Ust. perennans die kleinsten Sporen; doch hebt Verf. hervor, daß die Größe der Sporen keinerlei sichere Anhaltspunkte für die Bestimmung der Pilze bietet.

Bezüglich der Auskeimung und Mycelbildung, die zunächst in verdünntem Pflaumendekokt untersucht wurden, lassen sich die fünf Brandspecies in 2 Gruppen bringen, die man als „Mycelkeimer“ und als „Promycelkeimer“ unterscheiden kann. Zu den ersteren gehören Ust. Tritici und Hordei. Im Gegensatz dazu gehören Ust. Jensenii, Avenae und perennans zu den Promycelkeimern. An einem Promycel im Sinne de Bary's werden regelmäßig sehr bald Konidien abgeschnürt. Betreffs der Einzelbeobachtungen bei der Keimung dieser drei Species ist hervorzuheben, daß dieselben unter gewissen Umständen überhaupt nicht stattzufinden scheint. Hinsichtlich des Verhaltens der einzelnen Arten bei der Keimung müssen wir auf das Original verweisen. Es sind also nach diesen Untersuchungen Ust. Jensenii, Avenae und perennans befähigt, konidientragende Mycelien zu erzeugen, während Ust. Hordei und Tritici diese Fähigkeit nicht besitzen. Um diesen wichtigen morphologischen Unterschied mehr zu kennzeichnen, schlägt daher der Verf. vor, die letzten beiden Species ganz von der Gattung Ustilago zu trennen und für sie das Genus Ustilagidium zu wählen. Was die Gemmenbildung anlangt, so wurde bei allen fünf Species solche beobachtet. Im Gegensatz zu Ustgd. Tritici sind die Gemmen von Ustgd. Hordei vielfach außerordentlich lang gestreckt. Hervorzuheben ist noch, daß auf mit Zucker und Peptonlösung getränktem Fliedermark einzelne rundliche Gemmen auftraten, welche an der gebräunten Membran eine besondere Skulptur in Form von Wärzchen hatten, wodurch sie den gewöhnlichen Dauersporen, wie sie auf der Wirtspflanze entstehen, sehr ähnlich waren. Bei den Konidien bildenden Arten können die Gemmen als Glieder der Mycelfäden oder als direkte Umwandlungsprodukte der Konidien entstehen. Die aus den Konidien gebildeten Gemmen sind bei Ust. Jensenii meist zweizellig-semmelförmig, bei Avenae meist einzellig-bisquitförmig. Bei der Gemmenbildung von Ust. perennans wird die ursprüngliche (ellipsoïdische) Form der Konidien im wesentlichen beibehalten. Bezüglich der an den Fadenteilen dieser drei Species sich bildenden Gemmen ist ein wesentlicher Unterschied gegenüber den bei Ustgd. Tritici und Hordei beobachteten Gemmen nicht nachzuweisen.

Verf. hat die in Betracht kommenden Pilze zunächst sicher rein gezüchtet und dann ihr Verhalten auf festen und flüssigen Substraten geprüft. Hierbei stellte sich heraus, daß das Mycel von Ustgd. Hordei auf jedem Substrat insofern sich sehr charakteristisch verhält, als es nach einer Kultur von wenigen Wochen ein radiär streifiges, durch Strangbildung hervorgerufenes Aussehen gewinnt. Im Gegensatz hierzu läßt das Mycel von Ustgd. Tritici nach einiger Zeit einen dichteren centralen Teil erkennen, um den konzentrisch gruppierte Fadenknäuel liegen. Auch die drei Konidienbildner Ust. Jensenii, Avenae und perennans zeigen in den Schälchenkulturen mit Bierwürze-Gelatine deutliche habituelle Differenzen. Außer diesem Substrat verwandte Herzberg zu den Schälchenkulturen auch noch eine

Zucker-Pepton-Gelatine von bestimmter Zusammensetzung. Hinsichtlich des Wachstums der fünf Species auf Agar ist zu bemerken, daß Ust. Jensenii, Ustgd. Hordei und Tritici unter sich wie den beiden anderen Species gegenüber große Verschiedenheiten aufweisen, während Ust. Avenae und perennans hier wie auch auf den Agar-Gelatinen kein differentes Wachstum zeigen. Als Resultat der gesamten Strichkulturen auf verschiedenen Gelatine- und Agarböden ist zu betonen, daß es mit Hilfe der geprüften Substrate möglich ist, für eine jede der fünf Species eine ganz charakteristische Vegetationsform zu erzielen und so brauchbare Unterscheidungsmerkmale zu erlangen.

Auch in Stichkulturen sind Ust. Jensenii, Hordei und Tritici leicht zu erkennen, während Ust. Avenae und perennans unter diesen Wachstumsbedingungen keine Unterschiede zeigen.

Im zweiten, physiologischen Teil seiner Arbeit berichtet der Verf. zunächst über die von ihm mit den genannten fünf Pilzspecies angestellten Ernährungsversuche. Er prüfte zunächst, aus welchen Verbindungen die fünf Pilze ihren Stickstoff- und Kohlenstoffbedarf gleichzeitig decken können, und verwandte Pepton und Asparagin. Es ergab sich, daß nur Ust. Jensenii und Avenae imstande sind, ihren N- und C-Bedarf aus Pepton und Asparagin zu decken. Ust. perennans besitzt diese Fähigkeit nur in sehr geringem Grade, während Ustgd. Hordei und Tritici ihren N- und C-Bedarf aus Asparagin gar nicht, aus Pepton nur sehr unzureichend decken. Sodann suchte Verf. zu ermitteln, aus welchen stickstoffhaltigen Stoffen die Pilze ihren Stickstoffbedarf befriedigen können, wenn als Kohlenstoffquelle Traubenzucker geboten wird. Dabei zeigte sich, daß für alle fünf Species Pepton die beste, salpetersaures Natron die schlechteste Stickstoffquelle war. Hinsichtlich der Konidienbildner (Ust. Jensenii, Avenae, perennans) steht bezüglich der Stickstoffernährung dem Pepton am nächsten Asparagin, diesem das weinsaure Ammoniak. Für Ustgd. Tritici sind sowohl Asparagin als weinsaures Ammoniak, wie auch schwefelsaures Ammoniak ebenso gute Stickstoffquellen wie Pepton, während Ustgd. Hordei bei der Verabreichung der Stoffe nur höchst mangelhaft gedeiht.

Weiterhin wurde geprüft, aus welchen kohlenstoffhaltigen Verbindungen die genannten Pilze ihren Kohlenstoffbedarf decken können. Keine von den fünf Spezies vermochte unter den gegebenen Bedingungen Galaktose zu assimilieren, auch scheinen Milchzucker und Stärke nicht verwertet zu werden, während Traubenzucker für alle fünf Species eine gute Kohlenstoffquelle ist, Rohrzucker die Mycelbildner besser ernährt als die Konidienbildner. Verschieden verhielten sich die einzelnen Species gegen Maltose, Dextrin, Inulin, Glycerin und Mannit.

Bezüglich der Fermentbildung ergab sich, daß alle fünf Spezies unter entsprechenden Bedingungen ein Gelatine peptonisierendes Ferment abscheiden; die Bildung eines Labferments konnte in keinem Falle nachgewiesen werden, während die bereits bekannte

Abscheidung eines Cellulose lösenden Ferments bestätigt werden konnte.

Von besonderer Bedeutung sind noch die mannigfaltigen Versuche, die Herzberg anstellte, um die Widerstandsfähigkeit der Pilze gegen Wasser von höheren Temperaturen und gegen gewisse Gifte kennen zu lernen. Indem wir betreffs der Einzelergebnisse auf das Original verweisen, ist betreffs der ersten Frage kurz zusammenzufassen, daß die Empfindlichkeit der Dauersporen der fünf Species gegen Wasser von höherer Temperatur mit dem Alter im allgemeinen zunimmt. Weniger empfindlich zeigten sich Ust. Jensenii und auch Ust. Avenae. Recht interessante Resultate lieferte nun namentlich auch die Untersuchung zur Ermittelung der Widerstandsfähigkeit der Sporen gewissen Giften gegenüber. Aus den zahlreichen Versuchen kommt Verf. zu dem vom landwirtschaftlich-praktischen Gesichtspunkte beachtenswerten Schlusse, daß als Schutzmittel gegen die von ihm untersuchten Brandarten die 15stündige Behandlung des Saatgutes mit einer 0,1 proz. Kupfervitriollösung, welche eine Temperatur von über 20° C besitzt, zu empfehlen sei, ein Verfahren, dessen genauer Ausführung in praxi allerdings einige Schwierigkeiten sich in den Weg stellen dürften.

Bruhne (Friedenau).

Vuillemin, P., Les Puccinies des Thesium. (Bull. de la Soc. Mycol. de France. 1894. p. 107.)

Die Arbeit bringt eine sehr erschöpfende Untersuchung über die beiden auf Thesium bisher bekannten Pucciniaarten. Es war bisher angenommen, daß Puccinia Thesii Duby mit dem Aecidium Thesii Desv. in einen Entwickelungskreis gehöre, und daß P. Passerinii Schroet. kein Aecidium besitze. Durch scharfsinnige Untersuchung der Pilze und Nährpflanzen weist aber Verf. nach, daß zur letzteren Art das Aecidium gehört (Auteupuccinia), während die erstere keins besitzt (Hemipuccinia). Daß Verf. den Schröter'schen Namen, weil jetzt der Speciesumfang ein anderer sei, in P. Desvauxii mit Unrecht abändert, sei nur nebensächlich bemerkt. Beide Pilze werden, sowohl was die einzelnen Fruchtformen und ihre Entwickelung betrifft, als auch in Bezug auf die Veränderungen, welche sie an der Nährpflanze hervorbringen, sehr genau behandelt. Deshalb bringt auch die Arbeit eine vortreffliche Bereicherung unserer Kenntnis dieser Gruppe von Puccinien.

Lindau (Berlin).

Arthur, J. C. and **Holway, E. W. D.,** Descriptions of American Uredineae, I. (Bulletin from the Laboratories of Natural History of the State University of Iowa. Vol. III. No. 3. p. 44—57. 3 Plates. 1895. March.)

Der Artikel giebt Beschreibungen und Angabe der Synonymen der Species, welche Verff. unter den Titeln „Uredineae exsiccatae et Icones" herausgegeben haben. Bei jeder Species wird die originelle Beschreibung gegeben in der Sprache, in welcher sie zuerst

herausgegeben war, worauf die neue Beschreibung und kritische Anmerkungen, gegründet auf die verteilten Pilzexemplare folgen. Wir haben es also mit dem Texte zu den „Uredineae exsiccatae et Icones" zu thun, deren Tafeln hier wieder herausgegeben sind. Der vorliegende Artikel behandelt nur die Leptouredineae, und zwar folgende Species:

Uromyces Rudbeckiae Arth. & Holw.; Puccinia Circaeae Per.; P. Lobeliae Ger.; P. Silphii Schw.; P. congregata Ell. & Holw.; P. Heucherae (Schw.) Diet.; P. curtipes Howe; P. Dayi Clinton; P. Veronicae (Schum.) Wint. (Nach Verf. soll der Name dieser Pflanze P. Veronicarum DC. sein); P. Xanthii Schw.; P. Asteris Duby; P. Anemones-Virginianae Schw.; P. Mesnieriana Thuem.; P. phorphyrogenita Curt.; P. Malvacearum Mont.; P. variolans Hark. und P. Holboellii Rostr. (Fortsetzung folgt.)

Geo. F. Atkinson (Ithaca).

Ellis, J. B. and **Holway, E. W. D.,** New Iowa Fungi. (Bulletin from the Laboratories of Natural History of the State University of Iowa. Vol. III. No. 3. p. 41—43. 1895. March.)

Beschreibung von vier neuen saprophytischen Species der Pyrenomyceten von Iowa: Cryptosphaeria juglandina auf Zweigen von Juglans cinerea, Valsa (Calospora) apatela auf Zweigen von Carya, Diaporthe (Euporthe) cornicola auf Zweigen von Cornus paniculata, und Metasphaeria corylina auf Zweigen von Corylus. Ferner werden zwei parasitische Species von Californien beschrieben: Cercospora (Cercosporella) prolificans bildet Flecke auf den Blättern von Sambucus glauca und Fusicladium peucedani ruft kleine oliv gefärbte Flecken auf Peucedanum simplex hervor.

Geo. F. Atkinson (Ithaca).

Peck, Chas. H., New species of Fungi. (Bulletin of the Torrey Botanical Club. Vol. XXIII. 1895. No. 5. p. 198—211.)

Unter 37 Species aus allen Teilen Nordamerikas sind zwei parasitisch, und zwar: Melasmia imitans aus Californien, welche Perithecien auf der unteren Seite lebender Blätter von Pteris aquilina bildet, während Caeoma aberrans aus Newfoundland leicht erhöhte Acervuli auf dem Korke lebender Erlen erzeugt. Aspergillus subgriseus kommt auf Corticium amorphum, Valsa brevis auf der Borke von Abies balsamea, in Labrador, Excipulina obscura auf dem Korke von Tsuga canadensis in Newfoundland vor und Leptoglossum latum auf sandigem Boden in Labrador. Die anderen Pilze sind Basidiomyceteen.

Geo. F. Atkinson (Ithaca).

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Lindner, Paul, Mikroskopische Betriebskontrolle in den Gärungsgewerben mit einer Einführung in die Hefereinkultur, Infektionslehre und Hefekunde. Für Studierende und Praktiker bearbeitet. Mit 4 Lichtdrucktafeln und 105 Textabbildungen. Berlin (Parey) 1895. Preis 12 M.

Liebig's Ausspruch, daß man auch mit dem Mikroskop Ursachen nicht sehen könne, gilt heutzutage nicht mehr. Das so geringschätzig beurteilte Instrument ist heute das unentbehrliche Werkzeug nicht nur des gelehrten Naturforschers, sondern auch der Techniker; insbesondere jener aus dem Gärungsgewerbe. Diese bei ihren Arbeiten am Mikroskop und im gärungsphysiologischen Laboratorium zu unterstützen und zu beraten, ist der eine Zweck des vorliegenden Buches. Dasselbe berücksichtigt vorzüglich die Brauerei, Brennerei und Preßhefefabrikation, als die Hauptzweige der Gärungstechnik, und zwar mit dankenswerter Ausführlichkeit. Der Verf. ist in der beneidenswerten Lage, einem Laboratorium vorzustehen, das mit der hochentwickelten und thatkräftig vorwärts strebenden norddeutschen Gärungsindustrie in engem und mannigfaltigem Verkehr ist. Diesen begünstigenden Umstand fühlt man aus jeder Seite dieses Buches heraus. Der intelligente Praktiker mag sich dem Studium dieses Werkes vertrauensvoll hingeben, die Mühe wird sich reichlich lohnen.

Doch nicht nur für den wirkenden, sondern auch für den werdenden Praktiker, den Schüler im gärungsphysiologischen Laboratorium ist dieses Hilfsbuch bestimmt. Es wird viele Fragen an den Lehrer überflüssig machen.

Auf den Inhalt näher einzugehen halte ich nicht für nötig, denn das bisher Gesagte wird genügen, um jeden Interessenten zu veranlassen, sich des Buches und der reichhaltigen Belehrung, die es gewährt, zu versichern. Lafar (Hohenheim bei Stuttgart).

Schutzimpfung, künstliche Infektionskrankheiten, Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Effront, J., Accoutumance des ferments aux antiseptiques et influence de cette accoutumance sur leur travail chimique. (Comptes rendus des séances de l'Académie des sciences de Paris. Tome CXIX. p. 169—172.)

Verf. hat schon in einer früheren Arbeit gezeigt, daß die Gewöhnung der Hefen an Fluorverbindungen einen Wechsel in ihrer chemischen Arbeit hervorruft. Je mehr sie nämlich an dieselben gewöhnt werden, desto weniger Bernsteinsäure und Glycerin bilden

sie, und wird die Gewöhnung lange genug fortgesetzt, so bildet schließlich die Hefe fast nur Kohlensäure und Alkohol aus Zucker.

Verf. hat nun untersucht, ob auch andere Fermente, so Milch- und Buttersäurebakterien, sich gegen Fluorverbindungen ähnlich verhalten und gefunden, daß auch diese bei Gegenwart der letzteren unter starker Herabsetzung ihrer Vermehrungsthätigkeit ihre Gärkraft bedeutend erhöhen.

Der Wechsel der chemischen Arbeit wird noch viel auffälliger bei Versuchen des Verf.'s mit Mycoderma aceti. Denn Essigsäurebakterien ohne Fluor bildeten aus 100 Teilen Alkohol 97,08 Essigsäure, mit 0,25 mg Fluorwasserstoffsäure dagegen nur 76,94, mit 50 mg 32,34 und mit 120 mg gar nur 2,62 Teile Essigsäure.

Eberdt (Berlin).

Schulze C., Die Anwendung des Pasteurisierens gegen Nachgärungen der Weine auf den Flaschen. (Sep. Abdr. aus Thiels Landwirtsch. Jahrb. 1895. p. 403—433.)

Der bereits auf Flaschen gefüllte Wein kann zweierlei unliebsame Veränderungen erfahren: er gärt nach oder er wird krank. Um beide Uebel zu vermeiden, hat Pasteur bekanntlich das Erwärmen des Weines auf 50—60° C empfohlen. Dies nach ihm benannte Konservierungsverfahren ist in der Praxis namentlich in Frankreich vielfach und mit gutem Erfolge angewandt worden. In Deutschland hat es sich jedoch speciell für Weißweine keine Beliebtheit verschaffen können, weil die deutschen Weine bei der Erwärmung auf jene Temperaturen an ihren guten Eigenschaften (namentlich Bouquet, Geschmack und Klarheit) empfindlich leiden, zumal in der Praxis die von Pasteur vorgeschriebene Temperatur von 50—60° meist auf 60—70° erhöht zu werden pflegt. Wegen dieser schädlichen Nebenwirkungen wird das Pasteurisieren bei uns vielmehr, so lange es irgend angeht, vermieden. Die vorliegenden Erfahrungen berechtigen aber keineswegs; die Erwärmung der Weine auch zur Vermeidung von Nachgärungen zu verwerfen. Pasteur hatte, als er ene hohe Temperatur empfahl, vielmehr in erster Linie die Weinkrankheiten im Auge. Die Frage blieb aber, ob um Nachgärungen zu begegnen, ebenfalls jene hohen und schädlichen Temperaturen nötig sind. Wenn deshalb auch, um die Weinkrankheiten zu vermeiden, das Pasteur'sche Verfahren jener schädlichen Nebenwirkungen halber auf deutsche Weine nicht anwendbar ist, so würde doch schon viel gewonnen sein, wenn man auf diesem Wege den Nachgärungen begegnen könnte. Denn gerade in der Jetztzeit, wo die Weine von Jahr zu Jahr jünger in den Handel gebracht werden, haben diese Nachgärungen gegenüber den Krankheiten an Bedeutung sehr gewonnen.

Diese Frage ist es, die Verf. einer experimentellen Prüfung unterworfen hat. Sie erforderte offenbar die Beantwortnng zweier Teilfragen: 1) welche Temperatur ist erforderlich, um die die Nachgärungen erregenden Hefen sicher abzutöten, und 2) bleiben bei dieser Temperatur jene schädlichen Nebenwirkungen ganz oder wenigstens teilweise aus?

Die Versuchsanordnung zur Entscheidung der ersten Teilfrage war folgende: Ein Quantum Most oder Wein oder Most mit Alkohol wurde in mehrere möglichst gleiche Flaschen gefüllt, deren eine ein Thermometer aufnahm, deren andere mit den betreffenden Hefen geimpft wurden (meist 2—5 ccm Hefebrei). Alle Gefäße wurden dann mit geeigneten Verschlüssen versehen, in ein Wasserbad von bestimmter Temperatur gegeben. Die das Thermometer enthaltende Flasche sollte nur einen Schluß darüber gestatten, wann der Inhalt der Flaschen die Wärme des Bades angenommen hatte. Von diesem Moment ab, blieben dann die anderen Gefäße eine bestimmte, aber verschieden lange Zeit noch im Bade (die Erwärmungszeit), um hierauf abgekühlt, sich im Brutofen selbst überlassen zu bleiben oder bei Verwendung von Wein zuvor noch mit einem Quantum sterilen Mostes versehen zu werden, um ein gärfähiges Gemisch herzustellen. Trat keine Gärung ein, so durfte zwar schon angenommen werden, daß die Hefe durch die Erwärmung getötet worden sei, um aber ganz sicher hierüber urteilen zu können, wurden nach Ablauf weniger Wochen jene vermutlich toten Hefen aus den Versuchsgefäßen noch einmal in frischen Most übergeimpft. Die Ueberimpfungen wurden selbstverständlich unter den üblichen Vorsichtsmaßregeln, zum Teil im Hansenschen Impfkasten vorgenommen. Die Resultate dieser zahlreichen Einzelversuche sind tabellarisch wiedergegeben.

Um klar sehen zu können, wurde zuerst mit einer Reinhefe „Rüdesheimer Hinterhaus“ experimentiert und zunächst deren Verhalten in Most geprüft. Sie erwies sich nicht in allen Entwicklungsstadien gleich widerstandsfähig der Erwärmung gegenüber. Junge Hefe starb vielmehr schon bei niederer Temperatur ab, als ältere; aber auch bei letzterer genügte eine $^1/_2$stündige Erwärmung auf 60° C um sie sicher abzutöten. Niedrigere Temperaturen mußten entsprechend länger, z. B. 50° C wenigstens 6 Stunden einwirken, um dasselbe Resultat herbeizuführen.

Im Weine war zu erwarten, daß die Wirkung der Wärme durch den gleichzeitig vorhandenen Alkohol noch gesteigert würde. Versuche in Most mit wechselnden Zusätzen von Alkohol und endlich direkt in Wein bestätigten diese Erwartung. Es ergab sich, daß schon ein zweistündiges Erwärmen auf 45° C selbst bei nur ca. 6,4 Proz. Alkoholgehalt den sicheren Tod herbeiführte. Höher alkoholhaltige Weine töten die Hefe bei derselben Temperatur in noch kürzerer Zeit.

Da es nun denkbar war, daß nicht alle Heferassen der Wärme gleich leicht erliegen, und daß speziell diejenigen Rassen, welche Nachgärungen verursachen, besonders widerstandsfähig seien, wurde mit 2 Hefen operiert, die, ohne gereinigt zu sein, direkt aus nachgärenden Flaschen entnommen, resp. in diesen direkt erwärmt worden waren. Es ergab sich, daß diese Hefen zwar in der That ein wenig resistenter als jene Reinhefe waren, daß aber auch bei ihnen selbst in demselben oben erwähnten Weine von 6,4 Proz. Alkohol eine zweistündige Erwärmung auf 45° C sicher den Tod herbeiführte und Verf. betrachtet daher diese Temperatur in genannter Zeitdauer als zur Vermeidung von Nachgärungen in allen Fällen für ausreichend.

Um nun die Einwirkung dieses modifizierten Pasteurisationsverfahrens auf die Qualität des Weines zu prüfen, wurden mehrere verschieden wertvolle bis edle Weine 2 resp. sogar 4 Stunden auf 45° C erwärmt und mit dem zurückbehaltenen, nicht erwärmten Proben durch Sachkenner verglichen. Es ergab sich, daß Bouquett und Geschmack durch die Erwärmung nicht verändert werden, daß dagegen die meisten Weine eine Trübung erfahren. Die trübenden Bestandteile ballen sich aber bald zu Flocken zusammen und können dann durch Filtration beseitigt werden. Ein von ihnen befreiter Wein wird bei einer zweiten Erwärmung nicht wieder trüb, Verf. glaubt infolgedessen, daß sein Verfahren 2mal hintereinander verwandt mit dazwischen liegender Filtration, der Praxis von großem Nutzen sein kann. Aderhold (Proskau).

Leufvén, Gust. J., Undersökningar angående pasteuriseringens och afkylningens inflytande på mjölkens bakteriehalt. (Redogörelse för verksamheten vid Ultuna landtbruksinstitut år 1894. p. 35—37.) Upsala 1895.

Selbst bei sorgfältigen Pasteurisieren der Milch zeigt sich oft in der Praxis eine auffallend geringe Haltbarkeit der pasteurisierten Milch. Es findet nämlich sehr oft bei den üblichen Apparaten eine Neuinfektion der pasteurisierten Milch statt, wenn letztere während der Passage eines Kühlapparates der Luft ausgesetzt wird. Bei den vorliegenden Versuchen wurde ein Pasteurisierapparat und ein Kühler aus der Aktiengesellschaft „Separator" benutzt, und es wurden in jedem Versuche drei Milchproben in sterilisierten Glasflaschen gesammelt, nämlich: I. Milch unmittelbar vor deren Eintritt in den Pasteurisator, II. Milch bei dem Austritte aus dem Pasteurisator, III. Milch unmittelbar nach der Passage des Kühlers. Die Milchproben standen jetzt unter gleichmäßigen Verhältnissen bis zum Eintreten der Koagulation. Die Haltbarkeit der Proben I war natürlich stets die kleinste, die der Proben II die größte. Für die gekühlten Proben war die Haltbarkeit im Verhältnisse zu II stets verringert und in einigen Fällen nicht viel größer wie bei I. — Die Zählungen der Bakterien pro ccm zeigten auch von II bis III eine mitunter bedeutende Vergrößerung.

Beim Pasteurisierungsprozesse wurden die eigentlichen Milchsäurebakterien getötet, gewöhnlich auch die in der Milch enthaltenen gelatineverflüssigenden Bakterien; nur wenige Arten widerstanden der Erhitzung, namentlich wurde ein Micrococcus beobachtet. Derselbe hatte keinen besonders schädlichen Einfluß auf die Milch; erst nach längerer Zeit koaguliert derselbe das Kaseïn zu einer kompakten Masse. Einen unangenehmen Geruch oder Geschmack entwickelt die genannte Art nicht. Bei der Neuinfektion auf dem Kühler gelangen mehrere gelatineverflüssigende Arten, besonders aber viele Milchsäurebakterien wieder in die Milch.

John Sebelien (Aas, Norwegen).

Corrigendum.

In II. p. 714. Zeile 23 von unten lies „das" statt „auf", auf p. 715 Zeile 10 von oben lies „für" statt „gegen".

In article by Dr. H. L. Russell on "A biological study of pasteurized milk and cream under commercial conditions" (Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. II. Abt. p. 741) the following corrections should be made: Fig. 2 should be inserted where Fig. 1 is placed and this should be accompanied by the following legend.

"Fig. 1 showing relation of bacterial growth to temperature changes during the pasteurizing process."

In place of Fig. 2 on page 748, Fig. 1 should be inserted accompanied by the legend beneath and also by the legend that is at present beneath Fig. 2.

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

DR. WILHELM WINDISCH.

Allgemeines über Bakterien und andere Mikroorganismen.

Arthur, J. C. and **Holway, E. W. D.**, Description of American Uredineae. (Natural History Bull. 1895. p. 44.)

Bakterienflora, die, des Mundes. (The international Journal of Microscopy etc. 1895. Jan.-No.)

Bertrand et **Bourquelot**, La laccase dans les champignons. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1895. 20 juillet.)

Brizi, U., Micromiceti nuovi per la flora romana. (Bull. della soc. Bot. Ital. 1895. p. 93.)

Bujwid, O., Bemerkungen über die Filtration bakterienhaltiger Flüssigkeiten. (Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. I. Abt. Bd. XVIII. 1895. No. 11. p. 332.)

Dietel, P., Drei neue Uredineengattungen (Massecella, Phagospora und Schizospora). (Ber. d. deutsch. bot. Ges. 1895. p. 332.)

Ellis, J. B. and **Everhart B. M.**, New Fungi mostly Uredineae and Ustilagineae from various Localities, and a new formes from Alaska. (Bull. Torr. Bot. Club. 1895. p. 362.)

Glück, Hugo, Ueber den Moschuspilz (Fusareum aquaeductum) und seinen genetischen Zusammenhang mit einem Ascomyceten. (Hedwigia. Bd. XXXIV. 1895. Heft 5. p. 254.)

Günther, C, Einführung in das Studium der Bakteriologie mit besonderer Berücksichtigung der mikroskopischen Technik für Aerzte und Studierende. 4. Aufl. Mit 72 nach eigenen Präparaten vom Verf. hergestellten Photogrammen. gr. 8°. Leipzig (Georg Thieme) 1895. 10 M.

Hoogewerff, S., Toegepaste Scheikunde voor den Ingenieur. s'Gravenhage (M. Nyhoff) 1895.

Johnson, George M., La tendance de la levure à se liquéfier. (Le petit Journal du Brasseur. Vol. III. 1895. No. 84. p. 531.)

Marpmann, G., Bakteriochemische Probleme. (Deutsch. amerikanische Apothekerzeitg. 1895. No. 11, 12. p. 142—143, 155—156.)

Renault, B., Sur quelques bactéries anciennes. (Bullet. du Muséum d'Histoire naturelle. 1895. No. 6.)

Saccardo, P. A., Sylloge fungorum vol. XI. Supplementum universale III. Padua 1895. 48 fr.

Smith, Erwin F., Root Tubercles of Leguminosae. (The American Naturalist. Vol. XXIX. 1895. No. 346. p. 898.)

Tracy, S. M. and **Earle, F. S.**, Mississipi Fungi. (Mississipi Agricultural and Mechanical College Experiment Station. Bull. XXXIV. 1895. p. 80—122.)

Systematik, Morphologie und Biologie der Bakterien und anderer Mikroorganismen.

Artaud, Jean, Les toxines microbiennes. Contribution à l'étude de leur action physiologique. [Thèse.] 8⁰. 142 p. Paris (libr. J. B. Baillière et fils) 1895.

Berlese, A. N., Prima Contribuzione allo studio della morfologia e biologia di Cladosporium e Dermatium. (Rivista di patologia vegetale. Vol. IV. 1895. No. 1—6. p. 2 con 6 tav.)

Blumenthal, F., Ueber den Einfluß des Alkali auf den Stoffwechsel der Mikroben. (Zeitschr. f. klin. Medizin. Bd. XXVIII. 1895. Heft 3 u. 4.)

Hansen, E. Chr., Untersuchungen aus der Praxis der Gärungsindustrie. Beiträge zur Lebensgeschichte der Mikroorganismen. Heft 1. 3. Aufl. Lex.-8⁰. XI, 92 p. mit 19 Abbildgn. München (R. Oldenbourg) 1895. 3,50 M.

Photobacterium sacrophilum, Dubois. (Compt. rend. de la soc. de biol. de Paris. T. V. 1895. p. 60.)

Poirault, G. et **Raciborski, M.**, Sur les noyaux des Urédinées [Suite]. (Journ. de Botanique. Année XI. 1895. p. 325—332.)

— —, Sur les noyaux des Urédinées. (Compt. rendus hebdomadaires des sciences de l'Académie des sciences de Paris. T. CXXI. 1895. No. 6.)

Sappin-Trouffy, Origine et rôle du noyau dans la formation des spores et dans l'acte de la fécondation, chez les Urédinées. Compt. rendus hebdomadaires des séances de l'Académie des sciences de Paris. T. CXXI. 1895. No. 8.)

Wehmer, C., Zur Frage nach dem Wert der einzelnen Mineralsalze für Pilze. (Berichte d. deutsch. bot. Gesellsch. 1895. p. 257.)

— —, Beiträge zur Kenntnis einheimischer Pilze. Experimentelle Untersuchungen auf dem Gebiete der Physiologie, Biologie und Morphologie der pilzlichen Organismen. Heft 2 mit 3 Taf. u. 6 Tab. 7 M.

Zawadzki, A. et **Brunner, G.**, Trois nouvelles espèces de vibrions-virgules. (Archive de scienc. biol. St. Pétersbourg. T. III. 1895. No. 5. p. 451—460.)

Allgemeine Gärungsphysiologie.

Bau, A., Ueber ein neues Enzym der Hefe. (Chemiker-Zeitung. Jahrg. XIX. 1895. No. 83. p. 1873.)

Dejonghe, Gaston, Fermentation de la raffinose; analyse de la lévure pressée. (Journ. de la Distillerie française. Année XII. 1895. No. 591. p. 467.)

Guichard, P., Microbiologie du destillateur. Ferments et fermentations. Av. 50 fig. 18⁰. Paris (J. B. Baillière & fils) 1895. 5 fr.

Harley, Observations sur les ferments et champignons producteurs de sucre et d'alcool, dans la fabrication de l'Arrak. (Bull. de la soc. myc. d. France. 1895. p. 201.)

Jacquemin, Georges, Emploi pratique en Vinification des Lévures pures sélectionnées (Vin, Cidre etc.). Les alcools produits des fermentations pures et leur innocuité au point de vue hygienique. Nancy (impr. Nancienne) 1895.

Prior, E., Erklärung der Gärungserscheinungen. Vortrag gehalten auf der 14. Jahresversammlung der freien Vereinigung bayerischer Vertreter der angewandten Chemie in Bayreuth am 2. August 1895. (Bayer. Brauer-Journ. Jahrg. V. 1895. No. 40. p. 469.)

Rietsch et **Herselin**, Sur la fermentation apiculée et sur l'influence de l'aération dans la fermentation elliptique à haute température. (Compt. rendus hebdomadaires des séances de l'Académie des sciences. T. CXXI. 1895. No. 9. p. 378.)

Stumpf, Josef, Die Kohlensäure in gegorenen Getränken. (Die Weinlaube. Jahrg. XXVII. 1895. No. 41. p. 481.)

Brauerei.

Wahl, R., Die Vorteile der Anwendung einer höheren Anstelltemperatur zur Einleitung der Untergärung. Vortrag, gehalten auf der Convention des Vereinigten Staaten Braumeister-Bundes in Baltimore. (American Brewers' Review. Jahrg. IX. 1895. No. 3. p. 101.)

Weinbereitung.

Gouirand, G., Sur la présence d'une diastase dans les vins cassés. (Moniteur industriel. 1895. No. 22.)

Kulisch, P., Anleitung zur sachgemäßen Weinverbesserung, einschließlich der Umgärung der Weine. Berlin (Paul Parey) 1895. 3 M.

Martinand, V., Action de l'air sur le moût de raisin et sur le vin. (Comptes rendus hebdomadaires des séances de l'Académie des sciences de Paris. T. CXXI. 1895. No. 15. p. 502.)

Prefshefefabrikation.

Dejonghe, G., Fabrication de l'aérolevure pressée (Suite). (Moniteur industriel. 1895. No. 35.)

Molkerei.

Bustert, H. u. Herz, F. J., Rote Käse. (Mitteil. des landwirtschaftl. Vereins im Algäu. Jahrg. VI. 1895.)

Nahrungs- und Genußmittel, Konserven etc.

Blasius, Rudolf u. Beckurts, H., Sterilisierte Kuhmilch als Nahrungsmittel für Säuglinge und Rekonvalescenten, nach Untersuchungen der sterilisierten Milch der Braunschweiger Molkerei. (Dtsche Vierteljahrsschr. f. öffentl. Gesundheitspfl. Bd. XXVII. 1895. p. 537—538.)

Boxall, R., Milk infection. (Lancet. 1895. No. 25. p. 1576—1577.)

Vallin, E., Les intoxications alimentaires par la viande de veau. (Rev. d'hygiène. 1895. No. 6. p. 473—482.)

Wette, Eugen, Studien über Mehl und Brot. Ueber das Verschimmeln des Brotes. (Arch. f. Hygiene. Bd. XXIV. 1895. p. 84.)

Zangemeister, Wilhelm, Kurze Mitteilungen über Bakterien der blauen Milch. (Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. I. Abt. Bd. XVIII. 1895. No. 11. p. 321.)

Luft, Wasser, Boden.

Carto, A., Sull' inquinamento delle acque del porto di Genova; ricerche chimiche e batteriologiche. (Giorn. d. r. soc. ital. d'igiene. 1895. No. 3. p. 93—104.)

Davids, Untersuchungen über den Bakteriengehalt des Flußbodens in verschiedener Tiefe. (Arch. f. Hygiene. Bd. XXIV. 1895. Heft 3 u. 4. p. 213.)

v. Ermengem, De la stérilisation des eaux par l'ozone. (Annal. de l'Institut Pasteur. Année IX. 1895. No. 9. p. 673.)

Hagen, Allen, The filtration of public water-supplies. New York (John Wiley and Sons) 1895.

Lode, Alois, Die Gewinnung von keimfreiem Trinkwasser durch Zusatz von Chlorkalk (Verfahren von M. Traube). (Arch. f. Hygiene. Bd. XXIV. 1895. Heft 3 u. 4. p 236.)

Maurizio, A., Zur Kenntnis der schweizerischen Wasserpilze nebst Angaben über eine neue Chytridine. (38. Jahresber. d. naturforsch. Gesellsch. Graubündens. 1894/95.)

Palamidessi, T., L'acqua potabile di Firenze. (Giorn. d. r. soc. ital. d'igiene. 1895. No. 3. p. 105—120.)

Plagge, Untersuchungen über Wasserfilter. (Veröffentl. a. d. Geb d. Militär-Sanitätsw. Hrsg. v. d. mediz. Abt. des kgl. preuß. Kriegsminist. 1895. Heft 9.) gr. 8°. III. 184 p. m. 37 Abbildgn. 5 M.

Sendtner, R., Das Grundwasser in den einzelnen Stadtteilen Münchens. (Dtsche Vierteljahrsschr. f. öffentl. Gesundheitspfl. Bd. XXVII. 1895. p. 545—549.)

Durch Parasiten verursachte Krankheiten der Pflanzen.

Diefenbach, Ludwig, Die Reben-Krankheiten, ihre Entstehung, Erkennung und Bekämpfung. Berlin (Paul Parey) 1895. 3 M.

Hartig, R., Das Absterben der Kiefer nach Spannerfraß. (Forstl.-naturwissenschaftl. Zeitschr. Jahrg. IV. 1895. Heft 10. p. 396.)

Lavergne, G., Rapport sur le black-rot dans le département de l'Aveyron en 1894. (Bull. du ministère d'agriculture. Paris 1895.)

Magnus, P., Eine Bemerkung zu E. Fischer's erfolgreichen Infektionen einiger Centaurea-Arten durch die Puccinia auf Carex montana. (Bot. Centralbl. Bd. LXIII. 1895. p. 39.)

Massee, G., The „spot" disease of Orchids. (Annal. of Botany. Vol. IX. 1895. No. 35. p. 421. With plate.)

Mc Alpine, D. and **Tepper, J. G. O.**, A new Australian Stone-making fungus. (Proc. of the Royal Soc. of Victoria. 1894. p. 166 c. tab.)

Pierce, Newton B., Grape diseases on the Pacific coast. (U. S. Department of Agriculture. Farmers Bulletin. 1895. No. 30.) 8^{0}. 14 p. With 3 figs. Washington (Government Printing Office) 1895.

Saccardo, P. A. ed **Berlese, A. N.**, Una nuova malattia de frumento. (Rivista di patologia vegetale. Vol. IV. 1895. No. 1—6. p. 56. Con 2 tav.)

Sadebeck, Einige Beobachtungen und Bemerkungen über die durch Hemileia vastatrix verursachte Blattfleckenkrankheit der Kaffeebäume. (Forstl.-naturwissensch. Zeitschr. 1895. p. 340.)

Shirai, M., A new parasitic fungus on the Japanese Cherry Tree. (The Tokyo Bot. Mag. 1895. p. 241.) [Japanisch.]

Sturgis, W. C., Experiments on the prevention of Potato scab. (18. Ann. Rep. of the Connecticut Agric. Exp. Stat. for 1894. New Haven 1895. p. 118.)

— —, Notes on the Early Blight of Potatoes. (Loc. cit. p. 127.)

— —, Scab on Turnips. (Loc. cit. p. 126. c. tab.)

— —, Experiments on the treatment of Pear scab, Fusicladium pirinum. (Loc. cit. p. 135.)

— —, Miscellaneous notes on fungi. (Loc. cit. p. 137.)

Woronin, M., Die Sklerotienkrankheit der gemeinen Traubenkirsche und der Eberesche (Sclerotinia Padi und Sclerotinia Aucuparia). (Mémoires de l'Académie impériale des sciences de St. Pétersbourg. VIII. Série. Classe physico-mathematique. Vol. II. 1895. No. 1. Av. 5 planch.)

Yasuda, A., Injury of leaves caused by a kind of humble-bee. (The Botan. Magaz. Vol. IX. Tokyo 1895. p. 294—305.)

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Abel, R., Taschenbuch für den bakteriologischen Praktikanten. 3. Aufl. Würzburg (A. Stuber) 1894.

Nuttall, George H. F., Ein einfacher, für Mikroskope verschiedener Konstruktion verwendbarer Thermostat. (Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. I. Abt. Bd. XVIII. 1895. No. 11. p. 330.)

Zenker, K., Chromkali-Sublimat-Eisessig als Fixierungsmittel. (Münch. med. Wchschr. Bd. XLI. 1895. No. 27. p. 532.)

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien.

Bolton, Meade, The effects of various metals on the growth of certain Bacteria. (International Med. Magaz. 1894. December-No.)

Grüneberg, M., Desinfektionsversuche mit Ammoniakdämpfen. [Inaug.-Diss.] 8^{0}. 26 p. Würzburg 1894.)

Peglion, V., Sopra i trattamenti antiperonosporici. (Riv. di Patol. vegetale. Vol. IV. 1895. No. 1—6. p. 67.)

Shinnunsky, R. M., Zur Frage über die desinfizierende Wirkung des Jodoforms. (Pharm. Ztg. f. Rußland. Bd. XXXIV. 1895. p. 517—518.)

Trillat, A., Des propriétés antiseptiques du formol ou aldéhyde formique en général et de son application en distillerie et en sucrerie. (Journ. de la Distillerie française. Année XII. 1895. No. 591. p. 465.)

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

1895. Centralblatt Bd. I. No. 22/23.
für Bakteriologie und Parasitenkunde.
II. Abteilung.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie und Parasitenkunde.

Zweite Abteilung:

Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie und Pflanzenpathologie.

In Verbindung mit

Prof. Dr. Adametz in Krakau, Dr. W. M. Beyerinck in Delft, Prof. Dr. A. B. Frank in Berlin, Dr. v. Freudenreich in Bern, Prof. Dr. Emil Chr. Hansen in Kopenhagen, Dr. Lindner in Berlin, Prof. Dr. Müller-Thurgau in Wädensweil, Dr. Erwin F. Smith in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. Stutzer in Bonn, Privatdocent Dr. Wehmer in Hannover, Dr. Weigmann in Kiel, Dr. Wilfarth in Bernburg und Dr. Winogradsky in St. Petersburg.

herausgegeben von

Dr. O. Uhlworm in Cassel.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

I. Band. Jena, den 15. Dezember 1895. No. 24.

Preis für den Band (26 Nummern) 16 Mark.

Original-Mittheilungen.

Das Verhalten von Bakterien ansteckender Viehkrankheiten gegen Säuren und mit Säure imprägnierter Torfstreu.

[Mitteilung aus der landwirtschaftl. Versuchsstation in Bonn.]

Von

A. Stutzer, Ref., R. Burri und E. Herfeldt.

Die wichtigsten Ergebnisse, welche wir beim Studium des Verhaltens der Cholerabakterien gegen Torfmull, und insbesondere gegen einen mit Säure imprägnierten Torfmull erhalten hatten [1]), ließen es wünschenswert erscheinen, die Versuche in gleicher Richtung, be-

1) Die keimtötende Wirkung des Torfmulls. (Arbeiten der deutschen Landwirtschafts-Gesellschaft. Heft 1) und: Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten Bd. XIV.

züglich der ansteckenden Viehkrankheiten fortzusetzen, um festzustellen, ob wir in der sauren Torfstreu ein geeignetes Mittel besitzen, der Uebertragung ansteckender Viehkrankheiten wirksam vorzubeugen.

Auf Wunsch der deutschen Landwirtschafts-Gesellschaft, und speziell der Abteilungen für Tierzucht und für Dünger, hat der Referent, in Gemeinschaft mit seinen oben genannten Mitarbeitern es unternommen, im bakteriologischen Laboratorium der landwirtschaftlichen Versuchsstation zu Bonn einen Teil der erforderlichen experimentellen Untersuchungen auszuführen, nachdem vorher mit dem andern Bearbeiter derselben Frage, Herrn Professor Eber in Jena, jetzt in Berlin, eine Vereinbarung über das beiderseitige Arbeitsprogramm getroffen war. Die Arbeiten sind von uns im Winter 1893—94 bereits ausgeführt und noch nicht veröffentlicht, weil die deutsche Landwirtschafts-Gesellschaft den berechtigten Wunsch äußerte, daß die Ergebnisse dieser Laboratoriums-Versuche in der Praxis auf ihren Wert geprüft werden möchten.

Diese Prüfung hat sich verzögert, weil die mit Schlachthäusern verbundenen Viehhöfe, welche zu diesbezüglichen Versuchen in erster Linie in Betracht kommen, meist durch Kontrakte mit ihren Düngerabnehmern für gewisse Zeiten gebunden sind, den Dünger in bisher üblicher Beschaffenheit zu liefern, teils sind andere Umstände maßgebend gewesen, welche eine Veröffentlichung unserer Arbeiten schon jetzt wünschenswert erscheinen lassen.

Die wichtigsten Ergebnisse, welche wir bei unseren früheren Cholera-Untersuchungen erhalten hatten, lassen sich kurz in folgende Worte zusammenfassen:

Die Cholerabakterien gedeihen in einem alkalisch reagierenden Medium vorzüglich gut, insbesondere wirkt das kohlensaure Ammoniak anregend auf ihre Lebensenergie und ihre Vermehrung. Sehr geringe Mengen von irgend einer freien Säure genügen, um diese Bakterien zu töten. Bei einer wirksamen Bekämpfung der Cholera wird man darauf achten müssen, daß nicht nur die Cholerabakterien in einem stets schwach sauren Medium sich befinden, sondern es müssen auch, wenn irgend möglich, diejenigen Bakterien, welche aus dem Harnstoff des Urins kohlensaures Ammoniak erzeugen, unterdrückt werden. Von den verwendeten Säuren zeichneten sich insbesondere die Salzsäure und die Schwefelsäure durch eine starke Wirkung vorteilhaft aus. Enthält das Medium, in welchem die Cholerabakterien sich befinden, mindestens $^1/_{100}$ Proz. freier Salzsäure oder mindestens $^5/_{100}$ Proz. freier Schwefelsäure, so werden die Cholerabakterien innerhalb 15 Minuten sicher getötet. Die Essigsäure in Form von gewöhnlichem Speiseessig verwendet, zeichnet sich auch durch eine günstige Wirkung aus, und kann der Gebrauch von Essig, als erstes Hausmittel, nicht dringend genug empfohlen werden.

Diese damals gesammelten Beobachtungen glaubten wir bei der Aufstellung eines Versuchsplanes über das Verhalten pathogener Bakterien der Viehkrankheiten beachten zu müssen. Von Mineralsäuren prüften wir das Verhalten der Schwefelsäure teils

in Flüssigkeiten, teils in Verbindung mit einer Torfstreu, der einige Prozent freier Schwefelsäure beigemengt waren. Die Schwefelsäure bietet gewisse Vorteile gegenüber der flüchtigen Salzsäure, namentlich beim Imprägnieren der Torfstreu mit Säure, sowie beim Transport und dem Gebrauch dieses Gemenges.

Die schwächer wirkende Phosphorsäure haben wir zu den Versuchen vorläufig nicht mit herangezogen, weil diese ungleich teurer ist, und wir uns das Ziel steckten, die Abtötung der Keime ansteckender Krankheiten in möglichst vollständiger, billiger und bequemer Weise zu erreichen.

Dagegen glaubten wir, in gleicher Weise wie bei den früheren Versuchen, das Verhalten der Bakterien gegen Speiseessig feststellen zu müssen, weil diese in allen Haushaltungen vorrätige und unschädliche Säure vielleieht als erstes Hausmittel beim unerwarteten Auftreten ansteckender Krankheiten mit Erfolg angewendet werden konnte. Endlich hielten wir es für wünschenswert, den experimentellen Nachweis zu liefern, ob die Bakterien in Gegenwart von kohlensaurem Ammoniak (welches bei der Zersetzung des Urins in Dünger sich bildet) gut gedeihen und sich fortpflanzen können. War dies der Fall, so mußten wir darauf Bedacht nehmen, die Entstehung des kohlensauren Ammoniaks beim Auftreten ansteckender Viehkrankheiten möglichst zu verhindern.

Die Eigenschaften und das Vorkommen der ammoniakerzeugenden Bakterien haben wir zum Gegenstande einer besonderen Arbeit gemacht und werden wir uns darauf beschränken, am Schlusse dieser Mitteilungen nur das wichtigste über dieselben anzuführen.

Von den verschiedenen Bakterienarten wurden die Bakterien des Milzbrandes, der Schweineseuche und des Schweinerotlaufs zur Untersuchung benutzt.

In den Milzbrandbakterien haben wir Repräsentanten der widerstandsfähigsten Mikroorganismen, während die andern beiden Bakterienarten weniger widerstandsfähig sind und gegen physikalische und chemische Einflüsse voraussichtlich nicht wesentlich verschieden von manchen Bakterien anderer Viehkrankheiten sich verhalten werden. Gelingt es, die Milzbrandbakterien zu töten, so werden wir mit denselben Mitteln höchst wahrscheinlich auch alle übrigen Bakterienarten der Viehkrankheiten in gleicher Weise vernichten können, und legen wir aus diesem Grunde auf die Versuche mit Milzbrandbakterien einen besonderen Wert.

1) Das Verhalten der sporenfreien Milzbrandbakterien gegen Säuren.

Die Milzbrandbakterien bilden bekanntlich, bei reichlichem Zutritt atmosphärischer Luft und bei gleichzeitiger Einwirkung einer Temperatur von mindestens 24—26° C Sporen, welche außerordentlich widerstandsfähig gegen physikalische und chemische Einflüsse sind, während in lebenden Tieren nur sporenfreie Milzbrandbakterien vorkommen. Wir hielten es für wichtig, sowohl das Verhalten dieser sporenfreien, wie auch der sporenführenden Mikroorganismen gegen Säuren zu ermitteln.

Ein Glaskölbchen, welches 50 ccm steriler Nährbouillon (mit 0,01 Proz. $Na^2 Co_3$) enthielt, wurde mit einer sporenfreien Milzbrandkultur geimpft und 3 Tage lang bei 15—20° C in einem dunklen Schranke stehen gelassen. Jetzt hatte am Boden des Gefäßes eine schleimige, fadenförmige Masse sich angesammelt, welche bei der Prüfung im „hängenden Tropfen" als eine Reinkultur von sporenfreien Milzbrandbakterien sich erwies. Diese 50 ccm Flüssigkeit, deren Gehalt an freiem Alkali zuvor durch Titrieren eines anderen Teiles derselben Nährbouillon genau festgestellt wurde, gossen wir nach dem Durchschütteln in eine sterilisierte, mit Glashahn versehene Messröhre, die in je 10 ccm eingeteilt war.

Vorher sind die erforderlichen Säuren in einer Stärke von doppeltem Gehalt wie in nachstehender Tabelle angegeben und unter Berücksichtigung der Alkalität der später damit zu mischenden bakterienhaltigen Nährbouillon, hergestellt und je 10 ccm derselben, sowie 10 ccm der flüssigen Milzbrandkultur in weite sterilisierte Reagenzgläser eingegossen. Das Glas wurde mit einem Wattestopfen sofort wieder verschlossen und die Flüssigkeiten gemischt. Nach Verlauf von 5 und von 15 Minuten ist je eine Platinöse voll von der Flüssigkeit entnommen, diese mit Nährgelatine gemischt und sind nun in üblicher Weise Platten gegossen, welche nach dem Erstarren in einen auf 20° C erwärmten Thermostaten mehrere Tage lang eingestellt wurden. Nachstehende Zeichen bedeuten:

+ Wachstum von Bakterien
— kein " " "
+· geringes " " "

a) Versuch mit Schwefelsäure:

Gehalt der Gesamtflüssigkeit an freier H^2So_4	Dauer der Einwirkung der Säure 5 Min.	15 Min.
0,01 Proz.	+	+
0,02 "	+	+
0,03 "	+	+
0,04 "	+	+
0,05 "	+	+
0,10 "	+	—
0,11 "	+	—
0,12 "	+	—
0,13 "	—	—
0,14 "	—	—
0,15 "	—	—
0,20 "	—	—
0,25 "	—	—

b) Versuch mit Essigsäure.

Als Material diente gewöhnlicher Speiseessig, 4½ Proz. Essigsäure enthaltend. Der Essig wurde mit soviel sterilem Wasser verdünnt, daß die Gesamtflüssigkeit nachstehenden Säuregehalt hatte.

Gehalt der Flüssigkeit an freier Essigsäure	Dauer der Einwirkung der Säure. 5 Min.	15 Min.
0,10 Proz.	+	+
0,15 „	+	+
0,20 „	+	+
0,25 „	+	+
0,50 „	+	+
0,75 „	+	+·
1,00 „	+	—
1,50 „	+·	—
2,00 „	—	—

Die Platten, entsprechend 1,50 Proz. Essigsäure, Dauer 5 Min., zeigten erst nach 36stündigem Stehen im Thermostaten sehr vereinzelte Kolonieen. Auf den Platten entsprechend 0,75 Proz. Essigsäure, Dauer 15 Min., bildeten sich ebenfallls erst später und nur wenig zahlreiche Kolonieen, welche infolge des langsamen Wachstums durch ein prachtvoll strahlenförmiges Gefüge mit langen verzweigten Ausläufern sich auszeichneten.

c) Das Verhalten der Milzbrandbakterien gegen kohlensaures Ammoniak.

Die Versuche mit einer Lösung von kohlens. Ammoniak sind in gleicher Weise wie diejenigen mit den vorhin erwähnten Säuren ausgeführt, indeß war die Dauer der Einwirkung eine längere, da es uns darauf ankam, den Nachweis zu liefern, ob die Bakterien bei längerer Einwirkung dieser alkalischen Substanz, die bei der Zersetzung des Urins sich bildet, getötet werden.

Gehalt der Gesamtflüssigkeit an NH_3 (in Form von kohlens. Ammoniak)	Dauer der Einwirkung des Ammoniaks 1 Stunde	24 Stunden
0,50 Proz.	+	+
1,00 „	+	+

Die Milzbrandbakterien sind demnach außerordentlich widerstandsfähig gegen kohlensaures Ammoniak und voraussichtlich auch gegen die dadurch bedingte alkalische Reaktion der Jauche, und scheint es, daß durch einen geringen Alkaligehalt (ungefähr $^1/_2$ Proz. NH_3 entsprechend) die Lebensfähigkeit dieser Bakterien sogar günstig beeinflußt wird, wie wir aus verschiedenen Beobachtungen entnehmen zu müssen glauben.

2) Das Verhalten der sporenhaltigen Milzbrandbakterien gegen Säuren.

Um sporenhaltiges Material zu erzeugen, ließen wir eine Agar-Strichkultur 5 Tage lang im Brutschrank bei 37,5° C liegen. Am 3. Tage konnten Sporen mit Sicherheit noch nicht nachgewiesen werden, am 5. Tage waren Sporen, wenn auch nicht in sehr reichlicher Menge, vorhanden. Die Agar-Strichkultur wurde vom Nährboden abgekratzt und in 50 bis 100 ccm sterilen Wassers gleichmäßig verteilt. Die weitere Ausführung der Versuche geschah in der vorhin beschriebenen Weise. Es ist nur ein Versuch mit

Schwefelsäure ausgeführt, da die Essigsäure keine Aussicht auf Erfolg versprach.

Gehalt der Gesamtflüssigkeit an H_2So_4	Dauer der Einwirkung der Säure 5 Min.	15 Min.
5 Proz.	+	+
6 „	+	+
7 „	+	+
8 „	+	+
9 „	+	+
10 „	+	+
12 „	+	+
14 „	+	+
16 „	+	+
18 „	+	+
20 „	+	+

Die Schwefelsäure ist unter den gegebenen Verhältnissen unwirksam.

3) Untersuchungen über die Bakterien des Schweinerotlaufs.

Die Bakterien des Schweinerotlaufs, und ebenso die später zu erwähnenden Bakterien der Schweineseuche gehören zu den nicht sporenbildenden Arten. Wir haben die Reinkulturen dieser Bakterien auf Nährbouillon (0,01 Proz. $Na^2 Co_3$ enthaltend) übertragen und die Kultur mehrere Tage lang im Brutschranke stehen gelassen. Nachdem reichliche Bakterienbildung eingetreten war, wurde die Flüssigkeit mit 50 bis 100 ccm sterilen Wassers verdünnt und in weiten Reagenzgläsern je 10 ccm mit 10 ccm Säure von verschiedenem Gehalt gemischt. Nach Verlauf von 5 und von 15 Min. sind hieraus Proben genommen und die alkalische Nährbouillon (0,05 Proz. $Na^2 Co_3$ enthaltend) übertragen. Diese ließen wir mehrere Tage lang bei 25° C stehen und prüften dann, ob Trübung eingetreten war, und diese Trübung von Bakterien des Rotlaufs herrührte.

a) Versuche mit Schwefelsäure.

Gehalt der Gesamtflüssigkeit an H_2So_4	Dauer der Einwirkung der Säure 5 Min.	15 Min.
0,01 Proz.	+	+
0,02 „	+	+
0,03 „	+	+
0,04 „	+	+
0,05 „	+	—
0,06 „	+	—
0,07 „	+	—
0,08 „	+	—
0,09 „	+	—
0,10 „	—	—
0,15 „	—	—

b) Versuche mit Essigsäure.

Gehalt der Gesamtflüssigkeit an Essigsäure	Dauer der Einwirkung der Säure	
	5 Min.	15 Min.
0,10 Proz.	+	+
0,50 „	+	+
1,00 „	+	+
1,50 „	+	—
2,00 „	—	—
2,50 „	—	—

c) Versuche mit kohlensaurem Ammoniak.

Gehalt der Gesamtflüssigkeit an NH_3 in Form von kohlens. Ammoniak	Dauer der Einwirkung des Ammoniaks	
	1 Stunde	24 Stunden
0,50 Proz.	+	+
1,00 „	+	—

Bei dem Versuch mit 0,50 Proz. NH_3, Dauer 24 Stunden, wurden die Bakterien außerordentlich geschwächt. In den Uebertragungen aus dieser Lösung in Nährbouillon wurden erst am 9. Tage die Flüssigkeiten trübe, und gelang es dann, Bakterien des Rotlaufs nachzuweisen.

4) Untersuchungen über die Bakterien der Schweineseuche.

Die Anordnung und Ausführung der Versuche war genau dieselbe wie bei den Untersuchungen, welche mit den Bakterien des Rotlaufs angestellt wurden.

a) Versuche mit Schwefelsäure.

Gehalt der Gesamtflüssigkeit an H_2So_4	Dauer der Einwirkung der Säure	
	5 Min.	15 Min.
0,01 Proz.	+	+
0,05 „	+	+
0,06 „	+	+
0,07 „	+	+
0,08 „	+	+
0,09 „	+	+
0,10 „	—	—
0,15 „	—	—

b) Versuche mit Essigsäure.

Gehalt der Gesamtflüssigkeit an Essigsäure	Dauer der Einwirkung der Säure	
	5 Min.	15 Min.
1,0 Proz.	+	—
1,5 „	—	—
2,0 „	—	—
2,5 „	—	—

c) Versuche mit kohlensaurem Ammoniak.

Gehalt der Gesamtflüssigkeit an NH_3 in Form von kohlens. Ammoniak.	Dauer der Einwirkung des Ammoniaks	
	1 Stunde	24 Stunden
0,50 Proz.	+	—
1,00 „	+	—

5) Die Anwendung einer mit Säure imprägnierten Torfstreu zur Tötung pathogener Bakterien.

Die in den letzten Abschnitten besprochenen Versuche haben im allgemeinen folgendes Resultat ergeben:

Das Vorhandensein von 0,10 Proz. freier H_2So_4 genügt, um innerhalb 5 Minuten die Bakterien des Schweinerotlaufs und der Schweineseuche dauernd zu vernichten. Sporenfreie Milzbrandbakterien erfordern bei gleicher Zeit 0,13 Proz. H_2So_4. Andererseits sind alle diese Bakterienarten gegen kohlensaures Ammoniak, welches aus dem Urin der Tiere in den Ställen in kurzer Zeit sich bilden kann, sehr wenig empfindlich. Wir dürfen sogar annehmen, daß eine schwache, durch kohlensaures Ammoniak hervorgebrachte alkalische Reaktion des die Bakterien umgebenden Mediums günstig auf ihre Entwickelung und weitere Verbreitung einwirkt, und wird das Ziel einer rationellen Bekämpfung dieser Bakterienarten darin bestehen, die Entwickelung von kohlensaurem Ammoniak zu vermeiden und die Bakterien mit geringen Mengen freier Säure in Berührung zu bringen.

Dieses Ziel läßt sich in verschiedener Weise erreichen. Besonders beachtenswert erscheint uns der Gebrauch einer mit Schwefelsäure imprägnierten Torfstreu. Der Gehalt an Schwefelsäure muß so bemessen sein, daß die Euter und Klauen, bezw. die Hufen der Tiere, welche diese Streu als Lager benutzen, dadurch nicht beschädigt werden, während andererseits die Entstehung einer alkalischen Reaktion des Mistes oder der Jauche nicht eintreten darf. Die Aufgabe weiterer Forschungen besteht in der Ermittelung diesbezüglicher Grenzwerte.

Im Sommer 1893 gab auf unsere Bitte der Leiter der Gutswirtschaft zu Poppelsdorf Herr Professor Ramm einer Kuh 6 Wochen lang eine 2-proz. freie Schwefelsäure enthaltende Torfstreu als Lager. Dieselbe befand sich auf dieser Streu sehr wohl, ohne daß sich am Euter oder an den Füßen Beschädigungen durch die Säure bemerkbar machten. Im Jahre 1894 ist der Versuch mit gleich gutem Erfolge 8 Wochen lang, unter Benutzung einer Torfstreu mit 3-proz. Schwefelsäure wiederholt.

Zu den weiteren bakteriologischen Untersuchungen verwendeten wir sporenfreie Milzbrandbakterien, da diese gegen Säuren etwas widerstandsfähiger, als die Bakterien des Rotlaufs und der Schweineseuche waren. Eine Nährbouillon wurde mit den Milzbrandbakterien geimpft und diese Kultur benutzt, nachdem am 4. Tage sehr reichliche Mengen von Bakterien darin sich entwickelt hatten. Bei einer Versuchsreihe benutzten wir 10 Teile der Milzbrandkultur und ließen diese in ein Glas fließen, welches 10 Teile saurer (2-proz.) Torfstreu enthielt, ohne die Flüssigkeit mit der Streu durch Umrühren zu vermengen.

Nach Verlauf von 1/2 Stunde wurden von dem feuchten Teile der Torfstreu Proben entnommen und diese nach dem Plattenverfahren auf lebende Milzbrandbakterien untersucht. Das Ergebnis war stets ein negatives.

Bei anderen Versuchen nahmen wir 10 Teile der flüssigen Milzbrandkultur, 45 Teile Wasser und 10 Teile saurer (2 Proz. H_2So_4 enthaltender) Torfstreu, führten die Untersuchungen in gleicher Weise aus, glaubten jedoch ein Mischen der Torfstreu mit der Flüssigkeit nicht unterlassen zu sollen, weil letztere nicht vollständig von der Streu aufgesogen wurde.

Der Erfolg war derselbe wie vorhin. Die halbstündige Einwirkung von soviel saurer Torfstreu, daß die Flüssigkeit nicht vollständig aufgesogen war, genügte, um die Milzbrandbakterien sicher zu töten.

Bei der Anwendung von saurer Torfstreu in Viehställen raten wir indeß soviel von dieser Streu zu nehmen, daß alle Flüssigkeiten von ihr vollkommen zurückgehalten werden.

6) Welche Anforderungen sind an die Beschaffenheit einer fabrikmäßig imprägnierten sauren Torfstreu zu stellen?

Das Imprägnieren der Torfstreu mit Schwefelsäure macht einige Schwierigkeiten, da dasselbe geschehen muß, nachdem der Torf den Reißwolf passiert hat und bevor er in die Presse kommt.

Schwierig ist ferner die gleichmäßige Verteilung der Säure in dem Torf. Der trockene Torf saugt nur langsam Feuchtigkeit auf. — Die Säure kann im konzentrierten Zustande nicht verwendet werden, man muß sie zunächst mit Wasser verdünnen.

Mit Recht mußte in den Jahren 1893/94 die ungleichmäßige Verteilung der Säure in dieser neuen Handelsware bemängelt werden, und ist es wesentlich den Preisausschreiben der deutschen Landwirtschaftsgesellschaft zu verdanken, daß in neuester Zeit eine wesentlich bessere Waare hergestellt wird. Das Quantum an Wasser, welches zum Verdünnen der Säure vor dem Imprägnieren der Torfstreu dient, ist leider noch immer ziemlich hoch, und wird infolgedessen der Gehalt der Torfstreu an Trockensubstanz nicht unwesentlich erniedrigt.

Ueber die gleichmäßige Verteilung der Schwefelsäure in den verschiedenen Schichten der Torfballen geben nachstehende Analysen Auskunft, welche auf eine angesäuerte Torfstreu sich beziehen, die von einer Firma in der Provinz Hannover angefertigt wurde:

	Schwefelsäure		Trockensubstanz	
	innere Schicht der Ballen	äußere Schicht der Ballen	innere Schicht der Ballen	äußere Schicht der Ballen
	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.
Torfmull	3,054	3,766	58,57	61,49
„	3,110	3,270	56,74	61,22
Torfstreu	3,431	3,023	59,93	64,48
„	3,201	3,127	59,56	63,66
„	3,122	3,575	63,65	68,44
„	2,968	3,124	63,01	67,14

In späterer Zeit lassen vielleicht, wenn die Nachfrage nach imprägnierter Torfstreu größer und die technischen Einrichtungen zum Imprägnieren bessere geworden sind, der Feuchtigkeitsgehalt und dadurch die Transportkosten des Materials sich vermindern.

Vorläufig werden wir uns damit begnügen müssen, daß die imprägnierte Torfstreu bei einem Säuregehalt von $2^1/_2$ bis 3 Proz. H_2So_4 durchschnittlich 40 Proz. Feuchtigkeit enthält. Wir sind der Ansicht, daß wir durch Verwendung einer solchen Streu, für den vorliegenden Zweck, größere Vorteile haben, als durch Benutzung der bisher üblichen Torfstreu mit nur 25 Proz. Feuchtigkeit.

Durch den höheren Wassergehalt ist das Absorbtionsvermögen für Flüssigkeiten vermindert, dagegen kann der voraussichtlich durch die Säure bewirkte Schutz vor ansteckenden Krankheiten und das ebenfalls durch die Säure wesentlich gesteigerte Absorbtionsvermögen für Ammoniak nicht hoch genug veranschlagt werden.

Man nimmt an, daß 100 Teile zerschnittenes Roggenstroh ungefähr 400 Teile Flüssigkeit aufsaugen können. 100 Teile Torfstreu dagegen nehmen 700—900 Teile Flüssigkeit auf. Da gute Torfstreu ungefähr 75 Proz. Trockensubstanz enthält, absorbiert 1 Teil Trockensubstanz annähernd das zehnfache seines Gewichts an Feuchtigkeit, also würden 100 Teile einer imprägnierten Torfstreu (mit 40 Proz. Feuchtigkeit und 60 Proz. trockener Masse) immerhin noch mindestens ebensoviel Feuchtigkeit wie zerschnittenes Roggenstroh aufsaugen können.

7) Was haben wir von der Benutzung des Essigs bei ansteckenden Viehkrankheiten zu erwarten?

Der gewöhnliche Speiseessig enthält 3—5 Proz. Essigsäure, er ist überall auf dem Lande und in den Städten leicht zu haben, und kann man durch dessen Benutzung keinen Schaden anrichten. Der Bezug von stärker wirkender Schwefelsäure ist für die Landleute viel umständlicher und für jemand, der damit nicht umzugehen versteht, gefährlich. Unsere Untersuchungen haben die Brauchbarkeit des Essigs als Hausmittel bei ansteckenden Viehkrankheiten ergeben. Die sporenfreien Milzbrandbakterien und die Bakterien des Rotlaufs wurden, wie aus den vorstehend mitgeteilten Versuchen ersichtlich, innerhalb 5 Minuten durch eine Flüssigkeit getötet, welche 2 Proz. freier Essigsäure enthielt, während für die Bakterien der Schweineseuche sogar schon $1^1/_2$ Proz. genügten. Wir sind somit imstande, durch den gewöhnlichen Speiseessig, dessen Gehalt an Essigsäure von 3—5 Proz. zu schwanken pflegt, die Ueberträger dieser ansteckenden Krankheiten zu töten. Ist in einem Stalle eine ansteckende Krankheit ausgebrochen, so wird man zweckmäßig den Mist, die Krippen, den Boden und die im Stalle befindlichen Utensilien mit Essig gut bespritzen, am besten mit Hilfe einer innen lackirten Gießkanne, und erst nach mehrstündiger Einwirkung des Essigs mit der weiteren Reinigung des Stalles beginnen, nachdem der Mist wiederholt umgestochen und jedesmal von neuem mit Essig begossen wurde. Die neben den kranken stehenden gesunden Tiere sind mit einem in Essig getauchten Tuche abzureiben, namentlich deren Maul, Euter, Hufe und Klauen, und wenn irgend möglich, nun in einem anderen Stalle unterzubringen. Gefallene Tiere übergieße man mit Essig, nament-

lich aber deren Exkremente, und bedecke alle Körperöffnungen (Kopf, After, etwaige Wunden) mittelst Tücher, die zuvor in Essig eingetaucht wurden.

Ganz besonders sind diese Vorsichtsmaßregeln bei Ausbruch von Milzbrand unverzüglich auszuführen, jedoch auch bei anderen ansteckenden Krankheiten nicht zu unterlassen. Die Milzbrandbakterien unterscheiden sich von anderen pathogenen Bakterienarten dadurch, daß erstere außerordentlich widerstandsfähige Dauerformen bilden können, die — wie unsere Versuche ergaben — durch eine Schwefelsäure, welche 20 Proz. H_2So_4 enthielt, nicht getötet wurden, während zur Vernichtung der sporenfreien Milzbrandbakterien weniger als $^1/_{100}$ dieser Säuremenge genügte. Unser Bestreben muß darauf gerichtet sein, die Sporenbildung der Milzbrandbakterien zu verhüten. Haben sich Sporen gebildet, so stehen wir der weiteren Ausbreitung der Milzbrandkrankheit fast machtlos gegenüber und ist mindestens die Vernichtung des Ansteckungsstoffes dann außerordentlich erschwert.

Die Sporen der Milzbrandbakterien entstehen nach übereinstimmenden Beobachtungen aller Forscher (siehe z. B. Fraenkel, Grundriß der Bakterienkunde, 3. Aufl. p. 275) niemals bei einer unter $+ 24—26^0$ C liegenden Temperatur und nur bei völlig ungehindertem Zutritt des atmosphärischen Sauerstoffes.

Die Sporen bilden daher sich nicht im lebenden Tierkörper und auch nicht in der unverletzten Tierleiche, weil es hier am nötigen Sauerstoff fehlt, wohl aber, wenn Blut aus dem Körper kranker Tiere austritt, und dieses einige Zeit der Einwirkung der Luft ausgesetzt war. Namentlich wird man die Sporen in dem am Körper haftenden Blute finden, weil die Bakterien hier sowohl mit Sauerstoff, wie auch mit Wärme versorgt werden. Diese Sporenbildung kann am besten dadurch vermieden werden, daß man die kranken Tiere unausgesetzt beobachtet und nach dem Verenden **sofort** alle Körperöffnungen, aus denen mögerlicherweise Blut austreten könnte, mit Essig durchtränkt. Der Essig bewirkt gleichzeitig die Erstarrung des Blutes durch Ausscheidung des im Blut enthaltenen Fibrins.

Wir erlauben uns zum Schluß noch darauf hinzuweisen, daß wir diese Vorschläge über die Behandlung mit Essig nur auf Grund der erhaltenen bakteriologischen Resultate machen, und sehen einer etwaigen Prüfung derselben durch klinische Versuche mit Interesse entgegen.

8) In welcher Weise wirkt die Schwefelsäure (bezw. die mit Schwefelsäure imprägnierte Torfstreu) auf die ammoniakbildenden Bakterien des Mistes und überhaupt auf die Vermeidung von Ammoniakverlusten des Düngers?

Ueber die bakteriologischen Vorgänge, welche bei der Erzeugung von Ammoniakverbindungen, insbesondere von kohlensaurem Ammoniak im Miste stattfinden, haben unsere Versuche folgendes ergeben [1]).

1) Journal f. Landwirtschaft. Bd. XLII, p. 329—484 und Bd. XLIII.

Die Erzeugung von Ammoniak erfolgt naturgemäß am leichtesten aus dem Harnstoff des Harns der Tiere, schwieriger aus der Harnsäure, noch schwieriger aus der Hippursäure. Um aus den stickstoffhaltigen Bestandteilen der Exkremente und der Einstreu Ammoniak zu bilden, sind zunächst tiefgreifende und verhältnismäßig langsam verlaufende Zersetzungen erforderlich. Alle diese Zersetzungen erfolgen unter dem Einfluß von Mikroorganismen, und zwar findet eine weit gehende Arbeitsteilung unter den verschiedenen Arten derselben statt. Ganz bestimmte Arten, die wir kurzweg „Ammoniakbakterien“ nennen, führen den Harnstoff, und vermutlich auch einige andere Nh-Verbindungen von sehr einfachen, chemischen Molekularverhältnissen in kohlensaures, bezw. karbaminsaures Ammoniak über. Die Ammoniakbakterien vermögen aus komplizierten Molekülen, auch unter den denkbar günstigsten Ernährungsverhältnissen, kein Ammoniak zu bilden. Die Zersetzung der komplizierteren, insbesondere der eiweiß- und peptonartigen Verbindungen, wird von ganz andern Bakterien bewirkt, diesen geht dagegen das Vermögen ab, aus dem Harnstoff das kohlensaure Ammoniak zu erzeugen.

Unter den Ammoniakbakterien finden wir sehr verschiedene Arten, die nicht nur morphologisch, und durch ihr sonstiges Verhalten von einander unterschieden werden können, sondern es sind auch ihre physiologischen Fähigkeiten sehr ungleiche. Wir fanden beispielsweise eine Art (Bac. ureae Burri 1), welche eine Lösung von 20 g Harnstoff in 1 l Nährflüssigkeit in 6 Tagen zur vollständigen Vergärung brachte, indem der Harnstoff bis auf den letzten Rest in Ammoniak verwandelt wurde, während eine andere Art (von uns Bac. ureae Burri 2 genannt) dieselbe Arbeit unter genau den gleichen Bedingungen schon in 12 Stunden leistete.

Die Ammoniakbakterien sind gegen das von ihnen erzeugte kohlensaure Ammoniak sehr unempfindlich, indeß verhalten auch in dieser Hinsicht die einzelnen Arten sich ungleich. Während gewisse Ammoniakbakterien in einer Nährlösung, die 10 Proz. Harnstoff enthält, durch das daraus erzeugte Ammoniak nicht vernichtet werden, starben andere durch die dauernde Einwirkung von nur 0,5 Proz. NH_3 (in Form von kohlensaurem Ammoniak). Am besten scheint diesen Bakterien eine Flüssigkeit zuzusagen, die, wie die gewöhnliche Jauche, einige Zehntel Prozent NH_3 an Kohlensäure gebunden, enthält.

Durch Säure werden die Ammoniakbakterien leichter als deren Dauerformen getötet. Als Versuchsmaterialien verwendeten wir einerseits verdünnte Schwefelsäure und andererseits teils ältere Mistjauche, teils mit Bakterien infizierten Kuhharn, der nur einige Stunden alt war. Durch 1 stündige Einwirkung von 0,5 Proz. H_2So_4 wurden die Dauerformen der Ammoniakbakterien nicht zerstört. Lassen wir dagegen die Säure mindestens 2 Tage lang einwirken, so sind die Ammoniakbakterien der Mistjauche durch 0,3 Proz. und diejenigen des infizierten Kuhharns durch 0,4 Proz. H_2So_4, auch im Dauerzustande vollkommen vernichtet. Bei diesen Versuchen hatten wir nur minimale Mengen der Jauche, bezw. des Kuhharns, lediglich als Impfmaterial benutzend, in eine Harnstoff enthaltende, sauer gemachte Nährlösung übertragen. Verwendeten wir als Nährlösung

direkt eine bereits alkalisch reagierende Jauche, so mußte soviel H_2So_4 hinzugesetzt werden, daß über den Neutralisationspunkt hinausgehend 0,3—0,4 Proz. freie Säure vorhanden war.

Wir haben in allen Fällen und auch unter den sonst denkbar günstigsten Ernährungsverhältnissen für Ammoniakbakterien gefunden, daß durch eine 24-stündige Einwirkung von höchstens 0,5 Proz. H_2So_4 diese Bakterien sterben. Eine Ammoniakbildung kann dann nicht mehr stattfinden. An eine Verflüchtigung von Ammoniak ist bei einer so stark sauren Beschaffenheit der Substanzen gar nicht zu denken; auch werden die pathogenen Bakterien getötet. Bei Vorhandensein von mindestens 0,5 Proz. freier Schwefelsäure findet ferner höchst wahrscheinlich eine wesentlich verminderte Thätigkeit derjenigen Bakterien statt, welche die stickstofffreien Substanzen des Düngers, unter Entweichen von Kohlensäure zersetzen, und die quantitativen Verluste beim Aufbewahren des Mistes verursachen. Zwar haben wir in dieser Hinsicht keine Versuche mit Schwefelsäure gemacht, jedoch bei der Beantwortung einer anderen Frage, nämlich über die Einwirkung der bisher gebräuchlichen Konservierungsmittel auf die Bakterien der Jauche festgestellt, daß durch einen Gehalt von mindestens 0,5 Proz. freier Phosphorsäure, keine übelriechenden Fäulnisprodukte in geeigneten Nährlösungen mehr entstehen und zwar hatte die Phosphorsäure nicht eine spezifische Wirkung in dieser Hinsicht ausgeübt, sondern sie wirkte lediglich durch ihre sauren Eigenschaften.

Wir dürfen wohl annehmen, daß die noch stärkere Schwefelsäure in gleicher Weise wirken wird.

Die Entstehung und die Verflüchtigung von freiem Stickstoff beim Aufbewahren des Mistes findet bekanntlich nur dann statt, wenn zuvor aus dem Ammoniak eine Salpeterverbindung erzeugt war. Zu einer solchen kommt es bei Gegenwart freier Schwefelsäure nicht, und geht aus allen diesen Erwägungen hervor, daß der Zusatz von Schwefelsäure zum Streumaterial in hohem Grade konservierend auf die Nhaltigen und Nfreien Bestandteile des Düngers einwirkt. Das Verhalten der üblichen Konservirungsmittel auf die Nfreien Anteile des Düngers haben wir nicht näher untersucht, dagegen können wir bezüglich der Konservirung Nh-Bestandteile sagen, daß der Schwefelsäure nur die freie Phosphorsäure, wie wir sie im Superphosphatgips finden, an Wirkung annähernd gleich kommt. Und zwar wirkt in diesem letztgenannten Fabrikat vorzugsweise die Säure. Der Gips vermag die Thätigkeit der Ammoniakbakterien und das Entweichen von kohlensaurem Ammoniak nicht zu hindern.

Wir haben nun weiter zu erwägen: Läßt der mit Schwefelsäure behandelte Mist zur Düngung sich benutzen? — Die letztere Frage sind wir geneigt mit ja zu beantworten. Es wird nötig sein, die Säure vor dem Gebrauche des Mistes zu neutralisieren und kommt hierbei insbesondere guter Mergel und staubfein gemahlener kohlensaurer Kalk in Betracht. Die Verwendung dieser kalkhaltigen Materialien wird zweckmäßiger auf der Düngerstätte (am besten in einer cementierten Düngergrube) als auf dem Felde stattfinden, indem man den Dünger schichtenweise ausbreitet, Mergel dazwischen

streut und den Dünger recht festtreten läßt. Wir bemerken ausdrücklich, daß wir über diese Behandlung des sauren Mistes mit kalkhaltigen Stoffen keine Erfahrungen sammelten, und ist es nötig, daß diese Frage noch weiter geklärt wird.

Keineswegs möchten wir empfehlen, die mit Schwefelsäure imprägnierte Torfstreu allgemein als Einstreumaterial zu gebrauchen. Man verwende sie regelmäßig in Abtritten und in den Viehtransportwagen der Eisenbahn. Man desinfiziere letztere nach dem Gebrauch nicht mit Chlorkalk, Karbol u. dergl., sondern mit Essig, falls die eisernen Bestandteile der Wagen durch Lack vor dem Angriff des Essigs genügt geschützt sind, und beseitige nachher den Essig durch Ausspritzen der Wagen mit Wasser. Die saure Torfstreu raten wir in den Viehställen zu benutzen, wenn die Gefahr einer Uebertragung ansteckender Krankheiten zu befürchten ist und in der Nähe solche Krankheiten herrschen. Ganz besondere Beachtung dürfte vielleicht die saure Torfstreu als regelmäßiges Streumittel für Schlacht- und Viehhöfe verdienen und erlauben wir uns die zuständigen Behörden zu bitten, die umfassendsten Versuche in Schlacht- und Viehhöfen baldigst in Angriff zu nehmen.

25. November 1895.

Ueber den jetzigen Stand der bakteriolog. Forschung auf dem Gebiete des Käsereifungsprozesses.

Von

Dr. Ed. von Freudenreich,

Vorsteher des bakteriolog. Laboratoriums der Molkereischule Rütti (Bern).

Trotz der vielen Arbeiten, die das bakteriologische Studium des Käsereifungsprozesses hervorgerufen hat — ich erinnere bloß an diejenigen von Duclaux, Adametz, Weigmann u. a. m. — sind unsere Kenntnisse auf diesem Gebiete noch recht mangelhaft. Eigentlich wissen wir bloß eines mit Sicherheit, daß nämlich Bakterien es sind, die diesen Prozeß verursachen [1]). Welche Bakterien aber dabei hauptsächlich mitwirken und auf welche Weise sie diese eigentümliche Gärung zu Stande bringen, darüber wissen wir noch sehr wenig. In früheren Arbeiten [2]) glaube ich nachgewiesen zu haben, daß jedenfalls die Milchsäurebakterien dabei eine Rolle spielen — ihre ungeheure Vermehrung im Käse beweist dieses — jedoch fehlt bis jetzt der Nachweis, daß sie für sich allein imstande seien, diesen Prozeß zu vollziehen. Was ferner die sog. Tyrothrixarten (verschiedene, die Gelatine verflüssigende Heu- und Kartoffelbacillenarten) anbelangt, von denen man bisher annahm, daß sie zu den Hauptfaktoren des Käsereifungsprozesses gehörten, so scheinen die-

1) Vgl. Ed. de Freudenreich, Recherches préliminaires sur le rôle des bactéries dans la maturation du fromage de l'Emmenthal. (Annales de Micrographie. II. p. 257.)

2) Landw. Jahrbuch der Schweiz. 1891. p. 16 u. 1894. p. 207.

selben, wie aus meinen diesbezüglichen Arbeiten sich ergeben hat [1]), im Käse recht spärlich vorhanden zu sein und sich überhaupt in demselben nicht vermehren zu können, sodaß an eine wesentliche Teilnahme derselben am Reifungsprozesse kaum zu denken ist. Andere Bakterien als die erwähnten konnte ich mit Ausnahme eines verflüssigenden Micrococcus, der im Anfangsstadium stets vorhanden ist, aber bald verschwindet, mit irgendwelcher Regelmäßigkeit bisher nicht nachweisen. Besonders scheinen bis jetzt alle Versuche, anaërobe Bakterienarten aus dem Käse zu züchten, fehlgeschlagen zu sein. So sagt z. B. Dr. Henrici in seiner umfangreichen Arbeit über die im Käse vorkommenden Bakterien, daß er keine einzige obligat anaërobe Art gefunden habe [2]). Freilich vertragen die meisten Milchsäurebakterien den Luftabschluß sehr gut, viele gedeihen sogar viel besser in Anaërobiose, aber die größere Zahl derselben entwickeln sich auch ganz gut auf den der Luft ausgesetzten Kulturplatten.

Auch mir gelang es bis jetzt nie, auf Agar- oder Gelatineplatten in einer Wasserstoffatmosphäre obligat anaërobe Arten zu züchten.

Verschiedene Versuche, die ich in jüngster Zeit anstellte, scheinen mir indessen die Möglichkeit einer Beteiligung der Anaëroben an dem Reifungsprozesse wieder in den Vordergrund zu stellen. Da es im Interesse der Sache liegt, daß das Studium des Problems des Käsereifungsprozesses von möglichst vielen Seiten in Angriff genommen werde, so möchte ich in folgendem einige diesbezügliche Erfahrungen mitteilen, die vielleicht anderen Forschern von Nutzen sein werden.

Zwei Thatsachen sind es namentlich, die ich anführen möchte:

1) Da das Plattenverfahren mir bis jetzt keine erschöpfenden Resultate geliefert hatte, habe ich in jüngster Zeit einen anderen Weg eingeschlagen, den der Mischkulturen, wenn man sich so ausdrücken darf. Es wurden nämlich von verschiedenen Käsen Emulsionen in sterilem Wasser hergestellt und sterilisierte Milch in Bierflaschen, der etwas Kreide zugesetzt worden war, damit geimpft. Stets nun fand anfangs eine heftige Milchsäuregärung statt, die öfters sogar ein Zerplatzen der Flaschen zur Folge hatte, wenn nicht öfters der Verschluß gelüftet wurde, um das Entweichen der gebildeten Gase zu ermöglichen; trotz der zugesetzten Kreide war die Reaktion stark sauer. Nach einigen Wochen aber änderte sich dieses und die Reaktion wurde alkalisch, wie dieses beim Reifen des Käses der Fall ist. Macht man nun Platten von dieser Milch, so bekommt man in der Regel nur die bekannten Milchsäureorganismen; von Tyrothrixarten z. B. ist keine Rede. In den mikroskopischen Präparaten dagegen sieht man größere Bacillen sowie Clostridiumformen. Alle Versuche, die ich machte, dieselbe auf anaërob gehaltenen Platten zu züchten, schlugen aber fehl. Ein besseres Resultat hatte ich nun, als ich in solcher Weise veränderte Milch zunächst einige Minuten auf ca. 100° erwärmte und dann Stichkulturen in hohe Zuckeragarschicht anlegte. In vielen Fällen erhielt ich so absolut anaërobe Bacillen, die ich noch nicht eingehend studiert habe, die sehr wahr-

1) Loc. cit. (Landw. Jahrbuch der Schweiz, 1894, p. 207.)

2) Dr. Henrici, Beitrag zur Bakterienflora des Käses. (Arbeiten aus dem bakteriolog. Institute der technischen Hochschule zu Karlsruhe. Bd. I. Heft 1. p. 1.

scheinlich Buttersäurebildner sind. Hinzuzufügen ist, daß die also veränderte Milch zwar nicht nach Käse riecht, jedoch beim Kosten einen käseähnlichen Geschmack unverkennbar verrät. Dieses Resultat fiel mir um so eher auf, als bereits Dr. Ed. Baier die Vermutung ausgesprochen hat, daß anaërobe Buttersäurebildner möglicherweise an der Bildung des Käsearomas teilnehmen dürften[1]).

2) In einzelnen der in der angegebenen Weise geimpften Flaschen trat eine noch weiter gehende Zersetzung ein; die Milch nahm einen dem des Limburger Käses täuschend ähnlichen Geruch an, der indessen bei fortschreitender Entwickelung in einen wahren Fäulnisgestank überging. Aus solcher Milch ließen sich wiederum durch das Plattenverfahren nur Milchsäurebakterien isoliren, auch bei Luftabschluß; als ich aber, wie oben gesagt, letztere durch Erwärmen vorerst abtötete und Stichkulturen anlegte, erhielt ich einen obligat anaëroben Bacillus, der in Milch, in gut verschlossenen Flaschen verimpft, den gleichen Gestank hervorbrachte. Dieser Bacillus bildet Sporen und hat im sporenbildenden Stadium Clostridiumform. Derselbe scheint mir bisher noch nicht beschrieben worden zu sein, und ich würde ihn daher vorläufig mit dem Namen Clostridium foetidum lactis bezeichnen. Die Stichkulturen in Zuckeragar haben das Aussehen eines umgekehrten Tannenbaumes und erinnern an die Tetanus- oder Schweinerotlaufkulturen. Eigentümlich ist, daß der Geruch der Agarkulturen ein käseartiger ist.

Damit soll nun keineswegs gesagt sein, daß gerade diese zwei Mikroorganismen an der Reifung des Käses Teil nehmen sollen; darüber haben vorerst ausführliche Versuche Klarheit zu verschaffen. Diese Thatsachen sind indessen insofern interessant, als sie zeigen, daß der Käse doch obligat anaërobe Bakterien enthält und daß nur die Unvollkommenheit unserer Kulturmethoden ihr Auffinden so schwer macht. Sehr wohl möglich ist es daher, daß die Erreger des Käsereifungsprozesses teilweise unter denselben zu suchen sein werden.

Das Clostridium foetidum lactis habe ich bis jetzt auf Gelatine nicht zum Wachstum bringen können; doch wächst es auch bei Zimmertemperatur, wenn auch langsam, in Zuckeragar. Trotzdem aber, daß ihm die Eigenschaft, die Gelatine zu verflüssigen abgeht, löst es das Kaseïn der Milch anscheinend total auf; die Milch wird gelblich verfärbt und es bleibt nur ein geringer Bodensatz. Dieser Umstand, daß auch solche Bakterien, welche die Gelatine nicht peptonisieren, trotzdem fähig sind, das Kaseïn der Milch zu zersetzen, wäre ein Beweis dafür, daß die Bakterien, welche die Reifung des Käses bedingen, nicht notwendiger Weise unter den sog. verflüssigenden Arten zu suchen seien.

Wie dem auch sei, glaube ich, obwohl diese Thatsachen noch weiterer Bestätigung bedürfen, die Forscher auf dieselben doch aufmerksam machen zu sollen.

P. S. Als die vorstehende Mitteilung bereits fertig geschrieben war, kam mir die Arbeit von D. W. Winkler über die Tyrothrixarten zu Gesicht (Centralbl. für Bakteriologie. II. Abt. I. p. 609

---

1) Centralblatt für Bakteriologie. 2. Abteil. Bd. I. p. 84 u. 118. (Ueber Buttersäuregärung.)

und 657). Nach derselben zu schließen, wären die Tyrothrixbakterien fähig, sich unter Verlust ihrer peptonisierenden Eigenschaften, allmählich in Milchsäurefermente umzubilden. Man könnte sich den Reifungsprozeß dann so denken, daß die Tyrothrixbakterien zunächst das Kaseïn peptonisieren und dann in Milchsäurefermente sich umwandeln, daher das fast ausschließliche Vorkommen letzterer im reifen Käse. Die von Dr. Winkler angegebenen Thatsachen wären jedenfalls sehr interessant, wenn sie sich bewahrheiten sollten. Eine genaue Nachprüfung und ein weiteres Verfolgen derselben wäre indessen am Platze, denn so auffällige Veränderungen und Umwandlungen biologischer Eigenschaften der Bakterien, wie die erwähnten, sind ein seltenes Vorkommnis.

Referate.

Beyerinck, M. W., De biologische wetenschap en de bacteriologie. (Redevoering gehouden bij het openen der lessen in de bacteriologie aan de Polytechnische School.) Delft (van Markens drukkerij) 1895.

In seinem Eröffnungsvortrage als Professor der Bakteriologie in Delft thut Verf. einige Griffe in das Gebiet der biologischen Wissenschaft, des bakteriologischen Unterrichtes und der praktischen Ergebnisse der Bakteriologie. War vorher von der Biologie als Wissenschaft nur in zweiter Linie die Rede und von der Chemie und Physik in erster Linie, so wird allmählich, dank ihrer weitgehenden praktischen Erfolgen, dieses nicht länger der Fall mehr sein. Es ist besonders der übergroßen Ausgedehntheit ihrer Objekte wegen (man denke z. B. an eine Zahl von 401 verschiedenen Hefepilzen), daß diese Wissenschaft früher gar nicht zu ihrem Rechte kommen konnte. Daneben steht als zweiter Faktor die außerordentliche Kompliziertheit der Lebenserscheinungen (Mechanisten und Vitalisten). Was ist das Leben und wo fängt es an? Thomson und Helmholtz auf der Seite der Biogenese, Nägeli auf der der Abigenese. Sowie die Chemie an der Ewigkeit der Elemente festhält, so halten allmählich die Biologen an der Ewigkeit des Lebens fest. Verf. möchte der Hypothese von Thomson nur dann wissenschaftlichen Charakter zuerkennen, wenn gleichfalls gezeigt werden könnte, daß der Zustand des latenten Lebens in einigen organischen Geschöpfen unendlich lang fortbestehen kann. In dieser Richtung hat die Entdeckung von Peter aus Göttingen, welcher die Keimfähigkeit von Samen aus lang verflossenen Zeiten beobachtete, seinen vollen Wert. Unsere geringe Kenntniss von dem Wesentlichen der Lebenserscheinungen hat immer das Erreichen von großen praktischen Resultaten schwer gemacht. Wo diese zum größten Teile vom Zufalle abhängig waren, war es deutlich, daß auf diese Weise die biologische Wissenschaft nicht populär werden konnte. Dieses gelang ihr erst durch die

Bakteriologie. Diese verdankt ihre Erstehung der strengen Anwendung der physiologischen Untersuchungsmethode, welche Verf. die dynamische Biologie nennen möchte. Diese Zellphysiologie, mit welcher die Bakteriologie sich beschäftigt, ist der erste Schritt auf dem Gebiete der Physiologie der höheren Geschöpfe. Die Einfachheit ihrer Methoden eignet sich vorzüglich zur allgemeinen Teilnahme, und wo Viele zusammen arbeiten, können die Entdeckungen nicht ausbleiben. Und welche Lebenserscheinungen zeigt uns die Bakteriologie? Wachstum, Fortpflanzung und die hiermit eng zusammenhängende Erblichkeit und Variabilität. Die Atmungserscheinungen werden bakteriologisch auf neuen Wegen untersucht. Die Entdeckung der Anaërobiose von Pasteur wirft neues Licht auf dieses Gebiet und nicht immer zeigt sich Verbrennung als der Ursprung der Kräfte, welche in der Zelle anwesend sind. Als neue Quelle der Energie tritt der Gärungsprozeß auf, welcher gewissermaßen an die Stelle der Atmung tritt. Bisweilen tritt ein Teil der Arbeitsenergie als Licht auf und die Bakteriologie untersucht den Zusammenhang dieser Erscheinung mit der Zusammensetzung der angebotenen Nahrung. Die Atmungserscheinungen verschaffen Engelmann das Mittel, die Sauerstoffabgabe im Lichte von grünen Pflanzenteilen und niederen Organismen zu studieren. Die Wärmeentwickelung bei der Atmung von Bakterien findet ihre praktische Anwendung bei der Erwärmung von Gartenerden (Heubrütung). Oxydationsprozesse der Bakterien werden in der Essigfabrikation benutzt. Die Bakteriologie der Milchsäuregärung schließt sich der Enzymologie an und hier wird die Bakteriologie früher oder später ihr Licht über die Zusammensetzung der chemischen Enzyme scheinen lassen. Die weitgehendsten Ergebnisse giebt uns jedoch die Bakteriologie auf den Gebieten der Hygiene, Agrikultur und Industrie (Cholera, Gärung, Gerberei, Tabakbereitung, Konservierung etc.). Verf. schließt seinen Vortrag ungefähr folgendermaßen: Lange werden das Diphtherieserum und Tuberkulin obsolet sein, Cholera- und Typhusbacillen fossil, wenn noch Hefearten in zahllosen Qualitäten und unmeßbaren Quantitäten kultiviert werden sollen zum Nutzen der Industrie und Fabriken von Milchsäurefermenten und Pigmentbakterien errichtet werden sollen.

van't Hoff (Kralingen).

Hansen, E. Chr., Experimental studies on the variation of yeast-cells. (Read before the botanical section of the British Association. Ipswich, September 13, 1895. — Annals of Botany. Bd. IX. 1895. p. 249—260.)

Die genannte Abhandlung enthält teils eine Uebersicht der früheren Untersuchungen des Verf's. in Betreff der Variation der Saccharomyceten, teils diejenigen neuen, welche er nach d. J. 1889 angestellt hat.

Wie bekannnt, sind die Saccharomyceten vielen Variationen unterworfen und besonders ist das Aussehen und die Gestalt der Zellen in hohem Grade veränderlich. Schon in seinen früheren Abhandlungen hat Verf. von den hier besonders wirksamen Faktoren (Temperatur, Luft und Nährsubstrat) Mitteilung gegeben. In der Natur kann man Varietäten finden, welche die Fähigkeit, Sporen zu

bilden, verloren haben. Wenn man dieselben durch Zusatz eines chemischen Stoffes, z. B. des Traubenzuckers, zum Nährsubstrate züchtet, wird man bei einigen Arten das normale Vermögen zur Sporenbildung wieder hervorrufen können. Schon vor mehreren Jahren gelang es Verf. von echten Saccharomyceten Varietäten heranzuzüchten, bei welchen diese Fähigkeit vollständig verloren ging. Dies geschah durch Züchtung derselben eine gewisse Zeit lang unter täglicher Erneuerung der Kulturen und bei einer Temperatur, die über die Maximumtemperatur der Sporenbildung und nahe der Maximumtemperatur der Sprossung lag. Gleichzeitig mit der Sporenbildung verloren auch die betreffenden Arten die Fähigkeit eine Haut zu bilden. Im Jahre 1889 konnte Verf. außer Zweifel stellen, daß die auf diese Weise erworbenen neuen Charaktere constant sind, denn die Kulturen waren durch zahllose Generationen unter normalen, günstigen und sehr variierten Verhältnissen fortgesetzt worden, ohne daß die Sporen- und Hautbildung zurückkehrten oder die durch die Umbildung entstandenen neuen Charaktere verschwanden. In dieser Beziehung stimmten alle untersuchten Arten überein. Einige der neugebildeten Varietäten zeigten außerdem ein stärkeres Wachstum in Würze als die Stammform. Verf. konnte indessen nur von echten Saccharomyceten solche sporen- und hautlose Varietäten heranzüchten, wogegen ihm dies bei Saccharomyces anomalus und Sacch. membranaefaciens mislang, welche auch in vielen Beziehungen sehr von den echten Saccharomyceten abweichen und vielleicht in besondere Gattungen einzureihen sind.

Der erste Teil der Abhandlung besteht aus den obenerwähnten Untersuchungen, welche, wie gesagt, aus früheren Zeiten herrühren [1]); in dem zweiten Teile finden sich die neuen Studien des Verf's. Ebenso wie er früher dargethan hat, daß Sacch. apiculatus seinen Winteraufenthalt in der Erde hat, ist es ihm später gelungen, dasselbe in betreff einiger der Gruppe Sacch. ellipsoideus angehörigen Saccharomyceten nachzuweisen, indem letztere, wie Sacch. apiculatus, 3 Jahre in der Erde zu leben imstande sind. Durch das Unterbringen sporenloser Varietäten in der Erde, zeigte es sich, daß dieselben hier früher als die Stammformen, von welchen sie herangezüchtet waren, abstarben, nämlich schon binnen einem Jahre. Ihre Widerstandsfähigkeit war also in der genannten Richtung vermindert worden. Rücksichtlich der Lebensgrenze in zuckerhaltigen Flüssigkeiten, in welchen sie Alkoholgärung hervorgerufen haben, scheint es, als ob kein Unterschied zwischen diesen Stammformen und ihren sporenlosen Varietäten vorhanden sei. In Würze werden die Lebensbedingungen der Stammformen andere sein als diejenigen der sporenlosen Varietäten, denn die ersteren bilden eine Haut an der Oberfläche der Flüssigkeit, welche Fähigkeit die letzteren, wie oben erwähnt, mit dem Vermögen Sporen zu bilden, verloren haben. Die in der Haut anwesenden Zellen können den Alkohol in Kohlen-

1) Dieselben finden sich teils in „Compte-rendu des travaux du Laboratoire de Carlsberg". 1881—91, teils in „Centralbl. f. Bakteriologie u. Parasitenk." 1889. p. 638 und teils in „Annales de micrographie", Fevrier 1890.

säure und Wasser spalten; nach einiger Zeit ist deshalb die Alkoholmenge in den Kolben, welche Kulturen der Stammform enthalten, weit geringer als in den Kolben, in welchen solche von den Varietäten sich finden; in letzteren ist sie constant. Durch vergleichende Versuche hat Verf. dies dargethan, indem er nach dem Verlaufe von 6 Monaten in einer Würzekultur von einer Brauereiunterhefeart nur 1,5 vol. Proz. Alkohol fand, während in einer anderen in derselben Würze, aber von einer sporenlosen Varietät derselben Hefeart dagegen 5,5 vol. Proz. Alkohol gefunden wurde, dieselbe Menge, welche sich 1 Monat, nachdem die Würze infiziert wurde, auch darin fand.

In betreff der Züchtung auf verschiedenen Nährgelatinen zeigen die Experimente des Verf's., daß bei diesem Verfahren Varietäten erhalten werden können, welche mehr Alkohol als ihre Stammformen bilden.

Von Carlsberg Unterhefe No. 1 hat Verf. eine Varietät auf folgende Weise herangezüchtet: Die Vegetationen wurden bei 32° C kultiviert und blieben hier, bis ihre Gärung unter den obwaltenden Verhältnissen vorüber war, ehe sie erneuert wurden. Indem diese Behandlung durch acht Kulturen fortgesetzt wurde, bekam Verf. eine Varietät, welche sich dadurch auszeichnete, daß sie 1—2 vol. Proz. Alkohol weniger als ihre Stammform bildete, wenn die Gärung in Würze vor sich ging, welche mit 10 Proz. Saccharose versetzt war. Diese Varietät zeichnete sich außerdem auch dadurch aus, daß sie unter Brauereiverhältnissen eine bessere Klärung und eine geringere Attenuation, als ihre Stammform, am Ende der Hauptgärung gab. Von einigen anderen Arten hat Verf. gefunden, daß dasselbe in derHauptsache gilt. Falls dagegen die Kulturen während der erwähnten Züchtung stark gelüftet und täglich erneuert werden, treten die genannten Umbildungen nicht ein.

Verf. giebt auch Beispiele von dem Einflusse der Bestandteile des Nährsubstrats in betreff der Darstellung von Varietäten, welche der von ihnen vergorenen Flüssigkeit einen andern Geschmack und Geruch verleihen, als die von ihren Stammformen erzeugten.

Rücksichtlich der in der neuesten Zeit von dem Degenerieren der Saccharomyceten und der Abstammung derselben von verschiedenen allgemeinen Schimmelpilzen publizierten Vorstellungen spricht Verf. aus, daß wir im Augenblicke nichts davon wissen. Wir sind nicht imstande gewesen, die Stammform einer einzigen dieser Hefearten nachzuweisen. Die Experimente von Klöcker und Schiönning haben dargethan, daß die von Takamine, Juhler und Jörgensen hervorgehobenen Behauptungen unrichtig sind.

Verf. hat im Vorhergehenden in den Hauptzügen die Variationserscheinungen dargestellt, ohne auf den Mechanismus derselben näher einzugehen. Auch in dieser Richtung hat er indessen umfassende Versuche gemacht. Von den äußerlichen Faktoren, welche die Variation der Saccharomyceten beeinflussen, nämlich das Nährsubstrat, die Luft und die Temperatur, können die zwei ersteren ohne Schaden für das Resultat in großer Ausdehnung variiert werden, wenn sie nur eine kräftige Vermehrung gestatten, denn eine solche ist

notwendig für die Entstehung einer konstanten Varietät. Anders stellt es sich mit dem dritten Faktor, der Temperatur; hier ist die Grenze sehr eng. 1—2° mehr genügen, um eine zu frühe Unterbrechung der Sprossung zu bewirken; 1—2° weniger geben in vielen Fällen eine Einwirkung, welche nicht hinlänglich wird. Die Temperatur ist offenbar der am meisten beeinflussende Faktor.

Während einige Variationen dem Anscheine nach das Gepräge des Zufalles tragen, zeigt es sich, daß einige gewisse Regeln befolgen, In einer größeren Abhandlung sollen besonders diese einer eingehenden Untersuchung unterworfen werden. Klöcker (Kopenhagen).

Zecchini, M. e **Ravizza, F.**, Esperienze di fermentazioni con lieviti selezionati. (Staz. sper. agr. ital. Vol. XXVIII. p. 189.)

Verff. führten sechs Gärungsversuche mit größeren Mengen von Mosten unter Anwendung ausgewählter Reinhefen aus, um den Einfluß der letzteren auf das jeweilige Gärungsprodukt festzustellen. Die Hefenreinkulturen waren nicht mit Hilfe des Hansen'schen Einzellsystems, sondern wie folgt gewonnen:

Kleine Mengen von sterilem Barbéramoste wurden durch Eintragen von Traubenbeeren verschiedener Lagen in Gärung versetzt und von den am schnellsten entwickelten und von Kahm freien Kulturen Uebertragungen auf neue sterile Mostportionen vollzogen. Von diesen zweiten Kulturen wurden wieder die am weitesten vorgeschrittenen ausgewählt, nach dem Gelatineplattenverfahren weiter verarbeitet und mit gut isolierten Kolonieen von neuem Gefäße mit sterilem Moste geimpft, welche die endgiltigen Reinkulturen lieferten. Nebenbei kamen noch von anderwärts bezogene Reinhefen, sowie eine aus Flaschenbier gezüchtete Bierhefe zur Verwendung. Die als Gärmaterial für die Versuche im großen dienenden Moste stammten in vier Fällen aus Barbéra, in je einem Falle aus Cortese und Otello. Den von den Verff. gezogenen Schlußfolgerungen sei Folgendes entnommen:

Aus fast allen Versuchen geht hervor, daß die ausgewählten Hefen auf die Gärung des Mostes einen Einfluß ausüben, welcher sich im Geschmack des Weines bemerkbar macht. Dieser Einfluß äußert sich aber nicht immer im günstigen Sinne, denn in vereinzelten Fällen wurde eine Qualitätsverminderung des Getränkes infolge der Einwirkung reiner Hefe festgestellt. Indessen blieb diese Einwirkung in sämtlichen Versuchen, wo sie sich überhaupt in diesem oder jenem Sinne bemerkbar machte, eine wenig auffallende. Bei Mosten aus anerkannt vorzüglichen Lagen war die Einwirkung reiner Hefen in Bezug auf Geschmack und Alkoholgehalt gleich Null. In den Fällen, wo die Anwendung reiner Hefen verbessernd auf das Bouquet eines Weines gewirkt hat, läßt sich dieses meist nur konstatieren, so lange der Wein jung ist; nach einiger Zeit des Lagerns ist nichts mehr von der durch die Gärung erworbenen Verbesserung zu bemerken. Die Bierhefe ist nicht imstande, das Gärprodukt in Bezug auf Geschmack und Bouquet in bedeutendem Maße zu beeinflussen. Die mit Bierhefe vergorenen Moste lieferten sogar nach dem Urteile der Sachverständigen einen besseren Wein als die zur

Kontrolle spontan vergorenen. Werden reine Hefen zu gewissem, von amerikanischen Reben stammendem Moste gegeben, welcher Wein von sog. fuchsigem Geschmacke (gusto volpino) liefert, so wird der letztere nicht unterdrückt oder abgeschwächt.

Die vom Auslande nach Italien zur Zeit eingeführten reinen Hefen bestehen meist aus mehreren Rassen und sind öfters mit S. apiculatus verunreinigt, weshalb diese Produkte den Weinbauern nicht empfohlen werden können. Die ganze Reinhefefrage befindet sich überhaupt erst im Anfange der Entwickelung und sollten diesbezügliche Studien vorläufig auf die zymotechnischen Laboratorien beschränkt bleiben. Immerhin muß eingeräumt werden, daß Moste aus geringen oder mittleren Lagen durch Zugabe einer gewissen Menge eines mit reiner Hefe in Gärung versetzten guten Mostes in Bezug auf die Qualität des werdenden Weines nur gewinnen können.

Burri (Zürich).

Peglion, Vittorio, Contribuzione allo studio morfologico dei fermenti del vino della Valpantena. (Staz. sper. agr. ital. Vol. XVIII. p. 369.)

Einleitend setzt Verf. auseinander, daß die Auffassung über die Verwendung reiner Hefen bei der Weinbereitung vielfach eine irrtümliche sei, daß infolge dessen einerseits zu große Hoffnungen auf das neue Gärungsprinzip gesetzt, anderseits nach den ersten unter unrichtigen Voraussetzungen angestellten Versuchen demselben jeder Wert abgesprochen werde. Auch die Moste der besten Lagen werden nämlich durch ein Hefegemisch vergoren, das sich aus zahlreichen Rassen zusammensetzt und von denen nur ganz gewisse den betreffenden Weinen charakteristische Eigenschaften zu verleihen mögen. Es ist daher verkehrt, aus Mosten vorzüglicher Herkunft aufs Geradewohl Hefen zu isolieren, um dieselben zur Verbesserung geringerer Weine zu verwenden; hingegen dürfte es viele Vorteile bringen, in einzelnen Lagen die Hefegemische, die gewissermaßen ein Produkt natürlicher Auswahl darstellen, einer Analyse zu unterwerfen und die einzelnen Arten auf ihre Leistungsfähigkeit zu prüfen. Von diesem Gesichtspunkte ausgehend, hat sich Verf. mit den Gärungsorganismen der Valpantena-Moste beschäftigt und vorläufig nach morphologischen und kulturellen Merkmalen eine Trennung der vorherrschenden Arten versucht unter Rücksichtnahme auf das mehr oder weniger vorgeschrittene Gärungsstadium. Als festes Nährmedium diente 10-proz. Mostgelatine und die endgiltige Darstellung der Reinkulturen geschah nach Hansen'schem Prinzipe. Es wurden isoliert:

1) Eine die Gelatine verflüssigende Hefe aus Most, der sich in stürmischer Gärung befand. Dieselbe zeigte alle Charaktere des Saccharomyces ellipsoideus im Sinne von Rees.

2) Gleichzeitig mit der vorigen Art fand sich eine andere, nicht verflüssigende, die in sterilem Moste ebenfalls kräftige Alkoholgärung hervorruft. Sie zeichnet sich u. a. dadurch aus, daß der mittels Reinkultur gewonnene Wein auch nach vollendeter Gärung sehr trübe bleibt.

3) Vorherrschend war während der stürmischen Gärung eine Hefe, die sich von allen anderen durch langsames Wachstum auf

Mostgelatine auszeichnete. Diese Art vergährt den Most sehr energisch unter reichlicher Schaumbildung. Nach vollendeter Gärung ist die Flüssigkeit vollkommen klar und die Hefe bildet einen Bodensatz, der sich durch Bewegung leicht aufwirbeln läßt, doch ohne dabei das Gärprodukt für längere Zeit zu trüben.

4) Zur Zeit der verlangsamten Gärung, als die Flüssigkeit schon 10 Proz. Alkohol enthielt, wurde eine Hefe isoliert, die für diese Gärungsperiode als charakteristisch bezeichnet werden kann. Die Thätigkeit dieser Art, die sich vermöge ihres kulturellen Verhaltens leicht von den genannten Typen unterscheiden läßt, dauert noch an, wenn der Wein schon 14,3 Volumprozente Alkohol enthält. Fügt man sodann Zucker hinzu, so findet allerdings nur noch minimale Gärwirkung statt; indessen glaubt Verf., daß diese Hefe gerade für die Endgärung eine sehr wichtige Rolle spielt.

Neben diesen echten Hefen, die sämtlich zur Sporenbildung angeregt werden konnten, untersuchte Verf. noch einige hefeähnliche Formen.

5) In stürmisch gärendem Moste fand sich ein Organismus, der wahrscheinlich mit Torulopsis (Torula Pasteur) rosea Berlese identisch ist und vielleicht auch zu der sog. Rosahefe in Beziehung steht.

6) In außerordentlicher Zahl wurde während der ganzen Dauer der stürmischen Gärung, nicht aber zur Zeit der Endgärung, ein hefeähnlicher Organismus gefunden, der mit Torula No. 6 Hansen viele Eigenschaften gemeinsam hat. Er verflüssigt u. a. den Nährboden schnell, invertiert und vergärt Saccharose in bedeutender Menge.

7) An letzter Stelle wird eine zu Dematium gehörende Form beschrieben, die anscheinend in Traubenmost keine alkoholische Gärung hervorzurufen imstande war.

Ohne aus seinen Befunden schon jetzt bestimmte Schlüsse ziehen zu wollen, macht Verf. geltend, wie in verschiedenen Stadien der Weingärung morphologisch verschiedene Hefen thätig sind und daß jedenfalls auch entsprechende Differenzen in den biologischen Funktionen vorhanden sein müssen. Burri (Zürich).

Frank, A. B., Die Krankheiten der Pflanzen. Ein Handbuch für Land- und Forstwirte, Gärtner, Gartenfreunde und Botaniker. Band II: Die durch pflanzliche Feinde hervorgerufenen Krankheiten. 2. Auflage. Mit 96 in den Text gedruckten Abbildungen. Breslau (Verlag von Eduard Trewendt) 1896. Preis 10,80 M.

Die allgemeinen Gesichtspunkte, welche wir bei der Besprechung des ersten Bandes der zweiten Auflage dieses bekannten Werkes über die Krankheiten der Pflanzen vor beinahe Jahresfrist an derselben Stelle hervorhoben, leiten uns auch bei der Beurteilung des soeben erschienenen 2. Bandes, der die durch pflanzliche Feinde hervorgerufenen Krankheiten behandelt. Ein gewaltiges Material ist in dem voluminösen Bande zusammengetragen. Je mehr die phytopathologische Forschung die Grenzen ihres Gebietes zu erweitern trachtet, um so größer scheint von Tag zu Tag die Zahl derjenigen Mikroorganismen werden zu sollen, welche das normale Gedeihen der

Pflanzen zu bedrohen und zu stören vermögen. Die rasche Entwickelung der mikroskopischen Technik einerseits und die vermehrte Bedeutung auf der andern Seite, welche in unserer Zeit den zahlreichen Krankheiten unserer Kulturgewächse — auch vielfach vom Laien — beigemessen wird, haben ganz besonders dazu beigetragen, die Entfaltung der phytopathologischen Wissenschaft zu fördern. Es ist daher kein leichtes, in dem Rahmen eines Handbuches, das auch namentlich für weitere Kreise bestimmt ist, ein klares und übersichtliches Bild vom gegenwärtigen Standpunkte der Forschung aus dem Gesamtgebiete der Pflanzenkrankheiten zu gewähren. Es ist aber unbestreitbar, daß gerade auf dem Gebiete der parasitären Krankheiten in den letzten Jahrzehnten die Forschung die größten Fortschritte gemacht hat. In Anbetracht des Umstandes, daß die Zahl der parasitären Pilze fast täglich wächst, wird ein solches Handbuch, wie es uns Frank bietet, niemals alle Ergebnisse der Fortschritte bis in die letzte Zeit hinein verzeichnen können. Der Autor vermochte daher die neuen litterarischen Erscheinungen der allerletzten Jahre nicht mehr zu berücksichtigen, und zwar betrifft dies das meiste, was seit dem Jahre 1893 erschienen ist.

Dem System folgend bespricht Verf. zunächst die durch die niedrigsten pflanzlichen Organismen, die Schleimpilze und Spaltpilze hervorgerufenen Krankheiten und erörtert dann den parasitären Charakter der Chytridiaceen, Saprolegniaceen und Peronosporaceen, unter letzteren namentlich die drei Gattungen Phytophtora, Peronospora und Pythium. Zwei weitere ausführliche Kapitel behandeln dann die landwirtschaftlich ganz besonders beachtenswerten Ustilagineen und Uredineen, wobei der Autor kritisch alle die vorgeschlagenen Mittel zur Bekämpfung derselben beleuchtet. Ein weiteres Kapitel widmet der Verf. den durch Hymenomyceten verursachten Krankheiten, worunter alle die durch die größeren, auf Bäumen schmarotzenden Schwämme hervorgerufenen Wachstumsstörungen zu rechnen sind. Es werden dann ferner die Erysipheen, Perisporieen und die als mit parasitärem Charakter versehen geltenden Vertreter der Pyrenomyceten des näheren besprochen. Eine Abhandlung über die phytopathogenen Discomyceten und diejenigen Ascomyceten, welche nur in der Myceliumform bekannt sind, mit Rhizoctonia als hauptsächlichstem Vertreter, bildet den Schluß des ersten, den Hauptinhalt des Bandes ausmachenden Abschnittes.

In einem zweiten kleineren Abschnitt geht der Autor zur Besprechung der schädlichen Pflanzen über, welche nicht zu den Pilzen gehören. Es handelt sich hier um die parasitischen Algen, um die Beziehungen von Flechten und Mosen zu den Bäumen, auf denen sie sich angesiedelt haben, und um die phanerogamen Parasiten, wie Cuscuta, die Orobanche-Arten und die Loranthaceen. Ein letztes Kapitel widmet der Autor den Beschädigungen, welche die Pflanzen sich gegenseitig zufügen können. Hier finden auch die wichtigsten Acker- und Wiesenunkräuter und die Maßregeln zu ihrer Bekämpfung kurze Erwähnung.

Im übrigen hat die neue Auflage des 2. Bandes ganz den Charakter der vorhergehenden gewahrt, die land-, forstwirtschaftlich und gärtnerisch ganz besonders beachtenswerten Schädlinge haben

wiederum eine besonders ausführliche Behandlung erfahren, die durch anschauliche Abbildungen vorteilhaft unterstützt wird. Das Erscheinen der neuen Auflage dürfte recht vielen, namentlich auch praktischen Kreisen, sehr willkommen sein. Bruhne (Friedenau).

Brefeld, Oskar, Untersuchungen aus dem Gesamtgebiete der Mykologie. (Fortsetzung der Schimmel- und Hefenpilze. XI. Heft: Die Brandpilze II [Fortsetzung des V. Heftes]. Die Brandkrankheiten des Getreides. 98 p. und 5 lith. und meist farbige Tafeln. Münster i. W. (Heinrich Schöningh) 1895.

Die Arbeiten des Verf.'s bedeuten nicht nur eine Reformation der gesamten Mykologie, sondern sie enthalten auch eine solche Fülle der glücklichsten wunderbarsten Entdeckungen und von ausgereiften Resultaten vieljähriger planmäßiger Untersuchungen, daß das Erscheinen jedes neuen Heftes mit gesteigertem Interesse, wir möchten fast sagen, gesteigerter Ungeduld erwartet wird. Und doch hat jedes neue Heft unsere hochgespannten Erwartungen noch bedeutend übertroffen. Dies gilt auch von dem vorliegenden XI. Heft, dessen reicher auch für den Praktiker ungemein wichtige Inhalt durch die vorzüglichen z. T. kolorierten Tafeln noch besonders dem Verständnis zugänglich gemacht wird. Verf. behandelt in diesem Hefte nur die Entwicklungsgeschichte von 3 bekannten Brandpilzen: Ustilago Carbo, Ustilago cruenta und Ustilago Maydis und welche Fülle epochemachender allgemein wichtiger Entdeckungen enthält es! Wir heben von diesen nur einige hier heraus, im übrigen auf das vorzügliche Werk selbst verweisend.

Bekanntlich war Brefeld der erste, dem eine Kultur parasitischer Pilze in künstlichen Nährlösungen gelungen ist, und hat er den Nachweis geführt, daß die Brandpilze, diese ausgeprägtesten aller parasitisch lebenden Pilzformen, bei saprophytischer Lebensweise besondere bis dahin unbekannte Fortpflanzungsorgane, Conidien und Hefesprossungen in üppigster Entwickelung produzieren. Die neuen Untersuchungen haben nun ergeben, daß diese saprophytischen Fortpflanzungsorgane bei der Infektion unserer Kulturpflanzen die Hauptrolle spielen, die regelmäßigen, wo nicht die einzigen Erreger der Brandkrankheiten sind. Bei den Brandpilzen des Hafers und der Hirse, Ustilago Carbo und Ustilago cruenta, mit denen Verf. zuerst experimentierte, entwickeln die Chlamydosporen (die eigentlichen Brandsporen) im Wasser nur dürftige Fruchtträger mit einigen wenigen Konidien, während in Nährsubstraten üppige Fruchtträger entstehen, die in endloser Fülle Conidien bilden, die sich durch direkte Sprossung in Hefeform so lange vermehren, als Nährlösung vorhanden ist, erst nach deren Erschöpfung wieder Keimfäden bilden, mittelst deren sie — auf die Wirtspflanze gebracht — die Infektion bewirken. Beim Hafer wie bei der Hirse sind nur die jüngsten Keimlinge, die sich noch in der Erde befinden oder eben die Oberfläche erreicht haben, für eine wirksame Infektion empfänglich, die Empfänglichkeit erlischt beim Hafer nahezu, wenn das Scheidenblatt in dem Knöspchen eben durchstoßen wird, bei der Hirse, wenn es etwa 1 cm weit durchstoßen ist. Die Infektion erfolgt daher im Boden und zwar am üppigsten im frisch gedüngten Boden, wo die Conidien-

sprossung am reichlichsten von statten geht. Während von den Haferkeimlingen, die in die mit den Hefesprossungen infizierte ungedüngte Gartenerde gelegt wurden, nur 4 Proz. der Pflanzen erfolgreich infiziert wurden, ergaben die gleichen Versuche mit frisch gedüngter Erde bis zu 46 Proz. brandiger Pflanzen. Nach der Infektion am Keimling durchwuchert das Pilzmycel die Gewebe des Hafers und der Hirse (Sorghum saccharatum), aber erst nach Entwickelung der Inflorescenz, also nach einer längeren (bei der Hirse bis 6 Monate langen) Incubationszeit erfolgt die eigentliche Erkrankung mit der Bildung üppiger Brandlager. Mit fortschreitender Gewebedifferenzierung werden die Organe des Wirtes gegen das Vordringen der Infektionskeime geschützt. Die Infektion ist daher nur erfolgreich, wenn die letzteren siegreich bis zur äußersten Vegetationsspitze der jungen Nährpflanze vordringen, sie ist erfolglos, wenn die Entwickelung des Keimlings der der Pilzhyphen zu rasch voraneilt. Das letztere ist z. B. beim Hafer der Fall, wenn die Keimlinge einer zu hohen Temperatur ausgesetzt sind (bei ca. 15 ° C wurden nur 27—30 Proz. der infizierten Pflanzen später brandig, bei ca. 7 ° C dagegen 40—46 Proz.). Die Infektionen der Hirsekeimlinge waren von höherem Erfolg begleitet als die des Hafers, da der Keimling der Hirse eine langsamere Entwickelung zeigt als der des Hafers, in ihm daher die Vegetationsspitze von den Infektionskeimen leichter erreicht wird. Eine verspätete Infektion oder ein beschleunigtes Wachstum der Nährpflanze kann in anderen Fällen bewirken, daß nur eine dürftige Entwickelung von Brandlagern in den unteren Rispenästen zustande kommt. Brandkeime, die zu lange außerhalb der Nährpflanze gelebt haben und sich in Form von Sproßkonidien bei saprophytischer Ernährung vermehrt haben, büßen schrittweise die Fähigkeit, Fäden auszutreiben, und damit auch ihre Infektionstüchtigkeit ein. Letzteres war bei Ustilago Carbo nach etwa 1500 Generationen der Fall. Solche Pilzformen besitzen zwar dann noch endloses Vermehrungsvermögen, sie haben sich aber von ihrem Stammbaum abgelöst und ihre Zugehörigkeit zu höheren Pilzformen läßt sich nicht mehr nachweisen.

Bei dem Mais vermag der Beulenbrandpilz Ustilago Maydis in seiner Chlamydosporenform, da diese im Wasser nicht oder nur ausnahmsweise nach langer Zeit keimt, eine Infektion direkt überhaupt nicht zu bewirken. In Nährlösungen erfolgt eine rasche Entwicklung von Konidienträgern des Pilzes, deren Konidien unter der Oberfläche reiche hefeartige Sprossen bilden. Nach Erschöpfung der Nährlösung keimen die Sproßgonidien wieder zu Fäden aus, die an der freien Oberfläche dann eine neue Form von Conidienträgern, die baumartig verzweigten Träger von Luftconidien bilden. Die wirksame Infektion erfolgt hier überhaupt nur oberirdisch durch die letzteren, die also erst nach saprophytischer Aufzucht aus den Brandsporen entstehen (in dem Boden), sie erfolgt aber nicht nur an den Keimlingen, sondern auch an allen jugendlichen Organen der erwachsenen Pflanze. Die Bildung von Brandlagern erfolgt hier lokal, nur an oder in der Nähe der Infektionsstellen, auch ohne eine längere Inkubationszeit.

Zwischen den beiden extremen Brandformen, dem Hirse- und Haferbrand einerseits, wo die allein wirksame Infektion nur am Keimling erfolgen kann, die allein mögliche Entwickelung der eingedrungenen Infektionskeime aber erst im höchsten Gipfel der Wirtspflanze, in den Infloreseenzen gegeben ist, und dem Maisbrand, wo alle jungen Teile infiziert werden können, die Infektion aber nur lokal wirkt, bei dem aus den Brandsporen nach saprophytischer Entwickelung am Boden an dessen Oberfläche besondere Luftkonidien gebildet werden, giebt es Mittelformen, wie Urocystis occulta, Ustilago longissima etc., wo die Infektion am Keimling stattfindet, aber die Entwickelung der Brandlager schon in den Stengeln und Blättern erfolgt.

Luftkonidien fand Verf. bei zahlreichen Brandpilzen, die ein ähnliches Verhalten wie der Maisbrand zeigen, sie fehlen dagegen in Formen, die nur den Keimling infizieren und dann erst nach längerer Inkubationszeit die Krankheit zum Ausbruch bringen.

Ueber die verschiedenen Form- und Entwickelungsverhältnisse von mehr als sechszig weiteren in- und ausländischen Brandpilzen soll das demnächst erscheinende XII. Heft berichten.

F. Ludwig (Greiz).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

Dr. Wilhelm Windisch.

Allgemeines über Bakterien und andere Mikroorganismen.

Brefeld, O., Untersuchungen aus dem Gesamtgebiete der Mykologie. Fortsetzung der Schimmel- und Hefenpilze. Heft XII. Hemibasidii. Die Brandpilze. III. Fortsetzung des V. und XI. Heftes. gr. 4°. IV u. p. 99—236 m. 7 Taf. Münster (in Komm. Heinrich Schöningh) 1895. 24 M.

Dumée, P., Petit Atlas de poche des champignons comestibles et vénéneux les plus répandus, suivi de notions élémentaires sur les microbes, ferments et autres champignons microscopiques, utiles ou nuisibles. (Bibliothèque de poche du naturaliste. 1895. No. 3.) In-16°. 19 et 77 p. et 36 planches color. (dessins par Henri Gillet). Paris (P. Klincksieck) 1895.

Hueppe, Ferdinand, Naturwissenschaftliche Einführung in die Bakteriologie. Wiesbaden (C. W. Kreidel) 1895. 6 M.

Itzerott, G. et **Niemann, F.**, Atlas microphotographique des bactéries. 4°. Avec 126 illustr. Texte trad. p. S. Bernheim. Paris (Malvine) 1895. 20 fr.

Kutscher, Zur Phosphorescenz der Elbvibrionen. (Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. I. Abt. Bd. XVIII. 1895. p. 14/15. p. 424.)

Licastro, Le tappe della batteriologia. (Riforma med. 1895. No. 161. p. 121—123.)

Lister, Arthur, Notes on British Mycetozoa. (Journ. of Botany British and foreign. Vol. XXXIII. 1895. p. 340—344.)

Loeffler, F., Louis Pasteur †. (Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. I. Abt. Bd. XVIII. 1895. No. 16. p. 481—493.)

Mangin, G., Précis technique microscopique et bactériologique. gr. 18°. Paris (O. Doin) 1895. 3 fr.

Medicus, Louis Pasteur. (Die Gegenwart. Bd. XLVIII. 1895. No. 41.)

Ostermann, Vergiftungen von Kühen durch Wickenpilze. (Der Landwirt. Jahrg. XXXI. 1895. No. 94. p. 560.)

Péchère, Louis Pasteur. (Journ. de médecine, de chirurgie et de pharmacologie. 1895. No. 42.)

Rabenhorst, **L.**, Kryptogamenflora von Deutschland, Oesterreich und der Schweiz. I. Bd. Pilze. 54. Lieferung. gr. 8⁰. Leipzig (Eduard Kummer) 1895. 2,40 M.

Rößler, Ueber Kultivierung von Crenothrix polyspora auf festem Nährboden. (Archiv der Pharmacie. Bd. CCXXXIII. 1895. p. 189.)

Smith, **Annie Lorrain**, East African fungi. (Journ. of Botany British and foreign. Bd. XXXIII. 1895. p. 340—344.)

Stavenhagen, **A.**, Einführung in das Studium der Bakteriologie und Anleitung zur bakteriologischen Untersuchung für Nahrungsmittel-Chemiker. Mit 83 in den Text eingedruckten Abbildungen. Stuttgart (Ferdinand Enke) 1895. 4 M.

Sundberg, **C.**, Mikroorganismerna fran läkarens synpunkt. I. Dln. 8⁰. Upsala (W. Schultz) 1895. 10 kr.

Van Laer, Sur les levures de fruits. (Troisième congrès international tenu à Bruxelles du 8 au 16 septembre 1895. Règlement et programme. Rapports préliminaires. T. I. 1895.)

Wehmer, **C.**, Ueber die Verflüssigung der Gelatine durch Pilze. (Chemiker-Zeitung. Jahrg. XIX. 1895. No. 91. p. 2038.)

Systematik, Morphologie und Biologie der Bakterien und anderer Mikroorganismen.

Arnould, **E.**, Influence de la lumière sur les animaux et sur les microbes, son rôle en hygiène. (Revue d'hygiène. 1895. No. 6. p. 511—517.)

Benecke, Die zur Ernährung der Schimmelpilze notwendigen Metalle. (Pringsheim's Jahrb. f. wissenschaftl. Botanik. Bd. XXVIII. 1895. p. 487—530.)

Blumenthal, **F.**, Ueber den Einfluß des Alkali auf den Stoffwechsel der Mikroben. (Ztschr. f. klin. Med. Bd. XXVIII. 1895. Heft 3/4. p. 223—255.)

Bourquelot, **E.** et **Hérissey**, Arrêt de la fermentation alcoolique sous l'influence de substances sécrétées par une moisissure. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1895. No. 27. p. 632—635.)

Brefeld, **Oskar**, Untersuchungen aus dem Gesamtgebiete der Morphologie. Enstehung der Schimmel- und Hefenpilze. Heft XI: Die Brandpilze. (Fortführung des V. Heftes.) Die Brandkrankheiten des Getreides. 98 p. Mit 5 lithogr. meist farbigen Tafeln. Münster i. W. (Heinrich Schöningh) 1895.

Crisafulli, **G.**, Sulla decomposizione dell' acido ippurico per mezzo de microorganismi. gr. 8⁰. 9 p. Roma 1895.

Gibson, **H. B.**, Ueber die Entbindung freien Stickstoffs bei der Fäulnis. (Wollny's Forschungen. Bd. VIII. 1895. p. 106.)

Glück, **Hugo**, Ueber den Moschuspilz (Fusarium aquaeductuum) und seinen genetischen Zusammenhang mit einem Ascomyceten. (Hedwigia. Bd. XXXIV. 1895. p. 254—255.)

Havemann, **H.**, Ueber das Wachstum von Mikroorganismen bei Eisschranktemperatur. [Inaug.-Diss.] 8⁰. 21 p. Rostock 1894.

Ipsen, **C.**, Zur Differentialdiagnose von Pflanzenalkaloïden und Bakteriengiften. (Vierteljahrsschr. f. gerichtl. Med. Bd. X. 1895. Heft 1. p. 1—9.)

Juel, **H. O.**, Mykologische Beiträge. IV. Aecidium Sommerfeltii und seine Puccinia-Form. (Öfversigt af kongl. Vetenskaps-Akademiens Förhandlingar. 1895. No. 6. p. 379—386. mit 3 Figuren.)

Kedrowski, **W.**, Ueber die Bedingungen, unter welchen anaërobe Bakterien auch bei Gegenwart von Sauerstoff existieren können. (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XX. 1895. Heft 3. p. 358—375.)

Rauch, **F.**, Beitrag zur Keimung von Uredineen- und Erysipheen-Sporen in verschiedenen Nährmedien. [Inaug.-Diss. Erlangen.] 8⁰. 34 p. Göttingen 1895.

Rodet, **A.**, De la variabilité dans les microbes au point de vue morphologique et physiologique. Paris (Baillière fils) 1895.

Wagner, **Georg**, Kulturversuche mit Puccinia silvatica Schröter auf Carex brizoides L. (Hedwigia. Bd. XXXIV. 1895. p. 228—231.)

Winkler, **W.**, Zur Charakterisierung der Duclaux'schen Tyrothrixarten etc. (Centralbl. f. Bakteriol. u. Parasitenk. I. Abt. Bd. XVIII. 1895. p. 609.)

Zopf, **W.**, Zur Kenntnis des regressiven Entwickelungsganges der Beggiatoen. (Beitr. z. Physiologie u. Morphologie niederer Organismen. Bd. V. 1895. p. 37.)

Allgemeine Gärungsphysiologie.

Duclaux, E., Les levures alcooliques. (La Distillerie Française. Année XII. 1895. No. 598. p. 552.)

Guichard, P., Microbiologie du destillateur. Ferments et fermentations. 8⁰. Paris (J. B. Baillière & fils) 1895. 5 fr.

Kelhofer, Ueber die Zusammensetzung und die Vergärbarkeit des „Fruchtzuckers". (IV. Jahresbericht der deutsch-schweizerischen Versuchsstation und Schule für Obst-, Wein- und Gartenbau in Wädensweil 1893/94. p. 93.) Zürich 1895.

Nastukoff, Al., Essais sur le pouvoir réducteur des levures pures; moyens de le mesurer. (Annal. de l'Instit. Pasteur. Année IX. 1895. T. IX. No. 10. p. 766.)

Brauerei.

Cerny, Franz, Die Gärung der Bierwürze bei verschieden großer Menge des beigemengten Trubes. (Oesterr. Brauer- u. Hopfen-Ztg. Jahrg. VIII. 1895. No. 21. p. 277.)

Will, H., Welche Vor- und Nachteile bietet das Abkühlen des grünen Bieres vor dem Einschlauchen in den Lagerkeller und wie soll die Temperatur im Lagerkeller während des Einschlauchens und bei beginnender Nachgärung sein. Vortrag, gehalten auf der XIX. Generalversammlung der wissenschaftl. Station für Brauerei in München. (Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen. Jahrg. XVIII. 1895. No. 46. p. 373.)

Weinbereitung.

Müller-Thurgau, H., Gewinnung und Vermehrung von Weinheferassen. (IV. Jahresbericht der deutsch-schweizerischen Versuchsstation und Schule für Obst, Wein- und Gartenbau in Wädensweil 1893/94. p. 64.) Zürich 1895.

— —, Ansiedelung guter Hefen im Weinbergsboden. (Loc. cit. p. 68.)

— —, Eigenschaften und Verwendung der Reinhefen. (Loc. cit. p. 74.)

Spiritusfabrikation.

Delbrück, M., Die gute alte Preßhefe. (Zeitschr. f. Spiritus-Industrie. Jahrg. XVIII. 1895. No. 43. p. 339.)

Stenglein, M., Die gute alte Preßhefe. (Alkohol. Jahrg. V. 1895. No. 44. p. 693.)

Nahrungs- und Genußmittel, Konserven etc.

Aikman, C. M., Milk: its nature and composition. A handbook on the chemistry and bacteriology of milk, butter and cheese. 8⁰. 194 p. London (libr. Black) 1895. 3 sh 6 d.

Discussion on the prevention of milk epidemies. (Brit. med. Journ. 1895. No. 1809. p. 531.)

Hebebrand, A., Ueber das Verschimmeln des Brotes. (Arch. f. Hygiene. Bd. XXV. 1895. p. 101.)

Noack, G., Die Dampfsterilisation des Fleisches mit besonderer Berücksichtigung ihrer Ergebnisse in der Praxis. (Dtsche tierärztl. Wchschr. 1895. No. 32. p. 273—275.)

Noack, O., Meat and milk inspection in Germany. (Journ. of comparat. med. 1895. No. 7. p. 423—427.)

Preußen. Reg.-Bez. Minden. Polizeiverordnung über die Verwendung des Fleisches von notgeschlachteten und kranken Schlachttieren. Vom 9. April 1895. (Veröffentl. d. kaiserl. Gesundh.-A. 1895. No. 30. p. 500—501.)

Rennert, E., Ueber die vergleichende Wirkung geseihter und gewöhnlicher Milch auf die Darmgärung bei reiner Milchdiät. [Russisch.] (Dissert. St. Petersburg durch Med. obosr. Bd. XLIV. 1895. p. 374.)

v. Stark, Barlow'sche Krankheit und sterilisierte Milch. (Münch. med. Wochenschr. Jahrg. XLII. 1895. p. 976.)

Troitzky, J. W., Bakteriologische Untersuchungen über die sterilisierte Kuhmilch. (Arch. f. Kinderheilk. Bd. XIX. 1895. Heft 1/2. p. 97—106.)

Welte, Eugen, Ueber das Verschimmeln des Brotes. Bemerkungen zu der gleichnamigen Arbeit von A. Hebebrand. (Arch. f. Hygiene. Bd. XXV. 1895. p. 104.)

Luft, Wasser, Boden.

Acosta, E., Análisis bacteriológico del agua de Vento. (Crónica médico-quirúrgica de la Habana. 1895. No. 5.)

Bertoni, G. e **Terni, C.**, L'acqua potabile della r. academia navale di Livorno. (Giorn. d. r. soc. ital. d'igiene. 1895. No. 4. p. 133—154.)

Buchanan, W. J., The bacteriological test for drinking water. (Indian med. Gaz. 1895. No. 8. p. 298.)

Chemical, the, and bacteriological examination of drinking water from the standpoint of the medical officer of health. (Lancet. 1895. No. 3. p 172—173)

Chomski, K., Okreslenie hygienicznez wartosci wody do picia z punktu bakterjologicznego zapatry wania sie. (Zdrowie. 1895. No. 118. p. 234—241.)

Cobb, The instillation of Pasteur's filters at Darjeeling. (Indian med. Gaz. 1895. No. 7. p. 282—284.)

Davids, Untersuchungen über den Bakteriengehalt des Flußbodens in verschiedener Tiefe. (Arch. f. Hygiene. Bd. XXIV. 1895. p. 213—227.)

Davies, A. M., On the value of the chemical and bacteriological examination of water. (Indian med. Gaz. 1895. No. 5, 7. p. 184—190, 264—265.)

Dräer, Arthur, Das Pregelwasser oberhalb, innerhalb und unterhalb Königsberg in bakteriologischer und chemischer Beziehung, sowie hinsichtlich seiner Brauchbarkeit als Leitungswasser, nebst einigen Bemerkungen über die Selbstreinigung der Flüsse und über die Einleitung von Abwässern in Flußläufe. (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XX. 1895. p. 323—357.)

Goeschel, C., Ueber einen im Lahnwasser gefundenen, dem Cholerabacillus ähnlichen Vibrio. [Inaug.-Diss.] 8⁰. 43 p. Marburg 1895.

Hankin, E. H., The disinfection of wells. [From the Government Laboratory, Agra.] (Indian med. Gaz. 1894. No. 10.)

Hankin, E. H. and **Gadially, B. P.**, A further analysis of the water of the Zemzen well in Mecca. (Brit. med. Journ. 1895. No. 1804. p. 193—195.)

Lode, Alois, Die Gewinnung von keimfreiem Trinkwasser durch Zusatz von Chlorkalk (Verfahren von Traube). (Arch. f. Hygiene. Bd. XXIV. 1895. p. 236—264.)

Siedler, P., Ueber den Einfluß der Kohlensäure auf den Keimgehalt der Mineralwässer. (Apotheker-Ztg. Bd. X. 1895. p. 788.)

Thaxter, Roland, New or peculiar aquatic Fungi. I. Monoblepharis. (The Botanical Gaz. Vol. XX. 1895. p. 433—440. With 1 pl.)

Wasbutzky, J., Zum Nachweis der Bakterien der Typhusgruppe aus Wasserproben. (Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. I. Abt. Bd. XVIII. 1895. No. 17/18. p. 576.)

Weeney, Demonstration of the typhoid bacillus in suspected water by Pariettis method. (Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. I. Abt. Bd. XVIII. 1895. No. 22. p. 695.)

Durch Parasiten verursachte Krankheiten der Pflanzen.

Allescher, Andr., Zwei gefährliche Parasiten der Gattung Codiaeum. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. V. 1895. Heft 5. p. 276.)

Caterpillars attacking cocoa trees. (Bul. Bot. Dept. Jamaica, n. ser., 2. [1895.] No. 1. p. 1—5.)

Charmoy, D. de, Monograph of insects injurious to sugar cane and their enemies. (Rev. Agr. Ile Maurice. Jahrg. IX. 1895. No. 4. p. 92—95.)

Christ, H., An enemy of the larch on the High Alps. (Garden and Forest. Jahrg. VIII. 1895. No. 381. p. 238—239.)

D'Almeida, Verissimo et **Da Motta Prego, Joa**, Les Maladies de la vigne en Portugal pendant l'année 1894. (Annales de la science agronomique française et étrangère. Ser. II. Tome II. Année I. 1895. p. 140—153.)

Eich, E., Maladies et ennemies de la vigne en Algérie. (Troisième congrès international tenu à Bruxelles du 8 au 16 septembre 1895. Règlement et programme. Rapports préliminaires. T. I. 1895.)

Elliot, G. F. Scott, Climate and the origin of root-crops. (The Gardeners Chronicle. Ser. III. Vol. XVIII. 1895. p. 451—452.)

Fletscher, James, Bericht über eine Anzahl durch Insekten in Canada hervorgerufene Schädigungen von Kulturpflanzen. (Report of the Entomologist and Botanist. Experimental Farms reports for 1893. Appendix to the report of the minister of agriculture. Ottowa 1894. p. 157—184. Durch Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. V. 1895. Heft 5. p. 295.)

Forbes, A. C., Insect enemies to trees. (The Gardeners Chronicle. Ser. III. Vol. XVIII. 1895. p. 487—488.)

Galloway, B. T., Some destructive potato diseases, what they are and how to prevent them. (Farmers Bulletin. No. 13. Washington 1894.)

Green, S. B., Potato diseases. (Minnesota Sta. Bul. 1895. No. 39. p. 208—213. With 1 fig.)

— —, Apple tree sun scald. (Loc. cit. p. 217—222. With 4 figs.)

— —, Cane rust of rasp berries. (Loc. cit. p. 230—231. With 1 fig.)

King, Robert, Failure of plants of summer flowering Asters. (The Gardeners Chronicle. Ser. III. Vol. XVIII. 1895. p. 216.)

Kirk, T. W., The potato grub. (New Zealand Dept. Agr. Leaflets for Farmers. 1895. No. 16. p. 3. With 8 figs.)

Klebahn, K., Kulturversuche mit heteröcöischen Rostpilzen. IV. Bericht 1895. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. V. 1895. Heft 5. p. 257.)

Lamson, H. H., Report of the bacteriologist. (New Hampshire Sta. Rpt. 1893. p. 160—168. With 4 figs.)

Lodeman, E. G., Spraying of orchards. (New York Cornell Sta. Bul. 1895. No. 86. p. 47—76. With 8 figs.)

Marchal, Em., Rapport sur les maladies cryptogamiques étudiées au laboratoire de biologie de l'Institut agricole de l'État à Gembloux, en 1894. (Extr. du Bulletin de l'Agriculture. 1895.) 8°. 9 p. Avec 1 fig. Bruxelles (impr. Xavier Havermans) 1895.)

Massee, G., „Spot" diseases of Orchids. (Annals of Botany. 1895. Sept. With 1 pl.)

Maynard, S. T., Fungicides, insecticides and spraying calender. (Massachusets Hatch Sta. Bul. 1895. No. 29. p. 11. With 1 fig.)

Montemartini, L., Schäden an Warmhauspflanzen durch Protococcus caldariorum (Magnus) verursacht. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. V. 1895. Heft 5. p. 277.)

Müller-Thurgau, H., Die Thätigkeit pilzkranker Blätter. (IV. Jahresbericht der deutsch-schweizerischen Versuchsstation und Schule für Obst-, Wein- und Gartenbau in Wädensweil 1893/94. p. 54.) Zürich 1895.

Norton, J. B. S., Ustilago Reiliana on corn. (The Botanical Gaz. Vol. XX. 1895. p. 463.)

Richter, G., The coffee borer. (Proc. Agr. Hort. Soc. Madras. 1894. Jan.—Mar. p. 79—82.)

Ritzema Bos, J., Kurze Mitteilungen über Pflanzenkrankheiten und Beschädigungen in den Niederlanden im Jahre 1894. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. V. 1895. Heft 5. p. 286.)

Ross, B. B, Paris green, composition and adulterations. (Agricultural Experiment Station of the Agricultural and Mechanical College, Auburn, Alabama. Bull. LVIII. 1894.) 8°. 7 p. Montgomery, Alab. (Brown Printing Co.) 1894.

Sajo, Karl, Bericht über die in den letzten Jahren in Ungarn aufgetretenen Insektenschäden. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. V. 1895. Heft 5. p. 277.)

Spraying pear and apple orchards in 1894. (New York State Sta. Bul. LXXXIV. 1895. p. 36. With 7 figs.)

Stedman, J. M., Cotton boll-rot. A new bacterial disease of cotton affecting the seeds, lint and colls. (Agricultural Experiment Station of the Agricultural and Mechanical College, Auburn, Alabama. Bull. LV. 1894.) 8°. 12 p. With 1 pl. Montgomery, Alab. (Brown Printing Co.) 1894.

Stone, G. E., Plant diseases. (Massachusets Agl. College Rpt. 1894. p. 139—152.)

The elm leaf beetle. (Connecticut Storrs Sta. Bul. XIV. 1895. p. 8. With 1 fig.)

The treatment of diseased sugar canes in the West-Indies. (Proceedings of the Antigua branch of the Leeward Islands agricultural and commercial society at a meeting held on August 3. 1894.)

Treatment of common diseases and insects injourious to fruits and vegetables. (New York State Sta. Bul. LXXXVI. 1895. p. 69—120.)

Wachtl, F. A., Die krummzähnigen europäischen Borkenkäfer. (Mitteil. a. d. forstl. Versuchswesen Oesterreichs. 1895. Heft 19.)

Weed, C. M., Some dangerous fruit insects. (New Hampshire Sta. Bul. XXIII. 1895. p. 22. With 18 figs.)

Wehmer, C., Einige weitere Beiträge zum Parasitismus der Nestria cinabarina. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. V. 1895. Heft 5. p. 268.)

Went, Die Verbreitung der sog. Rotfäule des Zuckerrohres. (Dtsche Zuckerindustrie. Jahrg. XX. 1895. p. 1366.)

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Abel, Rudolf, Zur bakteriologischen Technik. (Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. I. Abt. Bd. XVIII. 1895. No. 22. p. 673.)
Bleile, A. M., A culture-medium for bacteria. (Med. News. Vol. II. 1895. No. 2. p. 41.)
Gundlach, J., Ueber die Verwendung von Hühnereiweiß zu Nährböden für bakteriologische Untersuchungen. [Inaug.-Diss.] 8°. 35 p. Erlangen 1894.
Mangin, G., Précis de technique microscopique et bactériologique. Précédé d'une préface de Mathias Duval. 18°. Paris (Doin) 1895. 3 fr.
Maurel, E., Description et principales applications de la méthode de l'immersion. (Arch. de médecine experimentale et d'anatomie pathologique. 1895. No. 2. p. 173.)
Selberg, Ferd., Beschreibung einiger neuer bakteriologischer Gebrauchsgegenstände. (Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. I. Abt. Bd. XVIII. 1895. No. 17/18. p. 529.)
van der Sleen, N., Sur l'examen bactériologique qualitatif. Haarlem (Héritiers, Loosjes) 1894.

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien.

A new fungicide. (Rev. Sci. ser. 4. Jahrg. III. 1895. No. 25. p. 795.)
d'Arsonval, Sur la production de l'ozone concentré et sur ses effets bactéricides. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1895. No. 23. p. 500—502.)
Frothingham, L. and **Pratt, J. H.**, The antibacterial action of acetanilid. (Amer. Journ. of the med. science. 1895. Aug. p. 146—156.)
Kelhofer, Borol, ein neues Peronosporabekämpfungsmittel. (IV. Jahresbericht der deutsch-schweizerischen Versuchsstation und Schule für Obst-, Wein- und Gartenbau in Wädensweil 1893/94. p. 90.) Zürich 1895.
Müller-Thurgau, H., Konservierung von unvergorenem Trauben- und Obstsaft. (IV. Jahresbericht der deutsch-schweizerischen Versuchsstation und Schule für Obst-, Wein- und Gartenbau in Wädensweil 1893/94. p. 78.) Zürich 1895.
Neißer, Max, Dampfdesinfektion und Sterilisation von Brunnen und Bohrlöchern. (Zeitschr. f. Hygiene. Jahrg. XX. 1895. p. 301—322.)
Neufeld, J., Die Desinfektion durch Dampf. (Wien. Klinik. 1895. 6. Juni.)
Sherran, G. M., Formaldehyde or formol as the desinfectant for India. (Indian med. Gaz. 1895. No. 9. p. 334—335.)
Sidler, Versuche über Bekämpfung der Pflanzenfeinde. (IV. Jahresbericht der deutsch-schweizerischen Versuchsstation und Schule für Obst-, Wein- und Gartenbau in Wädensweil 1893/94. p. 96.) Zürich 1895.
Tisserand, Eugène, Etat des vignobles en France et résultats de la lutte contre le Phylloxéra. (L'Alcool et le sucre. Année III. 1895. No. 4. p. 58.)
Trillat, Expériences de désinfection en grand par les vapeurs d'aldehyde formique ou formol. (Rev. d'hygiène. 1895. No. 8. p. 714—726.)

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie und Parasitenkunde.

Zweite Abteilung:

Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie und Pflanzenpathologie.

In Verbindung mit

Prof. Dr. **Adametz** in Krakau, Dr. W. M. **Beyerinck** in Delft, Prof. Dr. **A. B. Frank** in Berlin, Dr. **v. Freudenreich** in Bern, Prof. Dr. **Emil Chr. Hansen** in Kopenhagen, Dr. **Lindner** in Berlin, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Dr. **Erwin F. Smith** in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. **Stutzer** in Bonn, Privatdocent Dr. **Wehmer** in Hannover, Dr. **Weigmann** in Kiel, Dr. **Wilfarth** in Bernburg und Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg.

herausgegeben von

Dr. O. Uhlworm in Cassel.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

I. Band. Jena, den 31. Dezember 1895. **No. 25.**

Preis für den Band (26 Nummern) 16 Mark.

*Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde" richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige **Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.***

Original-Mittheilungen.

Ueber den Einfluss der Fütterung auf den Bakteriengehalt des Kuhkotes.

Von

Dr. **E. Wüthrich** und Dr. **E. v. Freudenreich.**

Seit Jahren bildet die Frage über den Einfluß der Fütterung bezw. der Verabreichung gewisser Beifuttermittel auf die Milch und Milchprodukte ein vielbesprochenes Thema in milchwirtschaftlichen Kreisen. Für den ruhig beobachtenden Fachmann ist es schon lange

zur Gewißheit geworden, daß ein und dasselbe Futtermittel in einem Falle keinen nachteiligen Einfluß auf die Qualität der Milch ausübt, während in einem anderen Falle ein solcher sich entschieden bemerkbar macht. Bei aufmerksamer Beobachtung zeigt es sich, daß berechtigte Klagen über den nachteiligen Einfluß gewisser Futtermittel fast ausnahmslos da auftreten, wo dieselben in verdorbenem angesäuertem Zustande verabreicht werden und wo namentlich auch die Reinlichkeit beim Melken zu wünschen übrig läßt. Die Milch verliert dabei ihre Haltbarkeit und zeigt Neigung zu anormalen Gärungserscheinungen, die namentlich bei der Rahmsäuerung und Fettkäsefabrikation zu Tage treten.

Solche anormale Gärungserscheinungen weisen nun unbedingt hin auf das Vorhandensein gewisser Bakterienarten in der Milch, die derselben bei normalen Verhältnissen fremd sind. Es lag deshalb für uns die Vermutung nahe, daß der Bakteriengehalt der Milch mit der Fütterung in irgend einem Zusammenhange stehe. Dies wäre z. B. der Fall, wenn die im Futter enthaltenen Bakterien teilweise in lebensfähigem Zustande in den Kot übergingen, oder wenn die Fütterung die Vermehrung gewisser Bakterienarten im Verdauungstraktus beeinflußte; denn der Kuhkot haftet am Euter der Kühe und ist bei unreinlichem Melken eine der häufigsten Verunreinigungen der Milch.

Unsere Untersuchungen sollten uns nun Aufschluß geben über die Frage: Wird der Bakteriengehalt des Kuhkotes durch die Fütterung wesentlich beeinflußt, sei es, daß die in den Futtermitteln enthaltenen Bakterien teilweise direkt in den Kot übergehen, sei es, daß die Fütterung die Vermehrung gewisser Bakterienarten im Verdauungstractus begünstigt?

Wir hatten uns vorgenommen, in dieser Richtung ziemlich weitgehende Versuche auszuführen, die zu verschiedenen Zeiten und mit verschiedenen Tieren stattgefunden hätten. Verschiedene Umstände verhinderten uns, den Versuch in der gewünschten Ausdehnung auszuführen, und so verfügen wir bis jetzt nur über ein verhältnismäßig beschränktes Versuchsmaterial, das aber immerhin imstande ist, uns über die obschwebende Frage einigermaßen zu orientieren. Wir teilen deshalb die bis jetzt gewonnenen Resultate in der Absicht mit, unsere Untersuchungen später zu vervollständigen.

Zu dem Versuche wurden 2 Kühe zugezogen. Vom 19. bis 21. Juni 1894 wurden sie ausschließlich mit Gras gefüttert. Darauf erhielten sie 2 Tage lang Gras mit Heu und vom 24. bis 28. Juni nur Heu. Vom 29. Juni bis 10 Juli fand auch Heufütterung statt, aber mit Beigabe von ca. 3 kg saueren Kartoffeln pro Mal und pro Tier. Vom 11. bis 16. Juli wurden die Kartoffeln durch Biertreber ersetzt. Letztere waren am 7. Juli frisch aus einer Brauerei abgeholt worden; bei Beginn der Malzfütterung waren dieselben schwach, bis zum Schluß stark sauer geworden.

Der Kot beider Kühe wurde im ganzen 7 mal bakteriologisch untersucht. Es wurden 0,2 bis 0,5 g Kot in 5 ccm sterilisiertem Wasser gut umgerührt und aus dieser Emulsion und aus 2 weiteren Verdünnungen derselben Gelatineplatten hergestellt. Im allgemeinen

beschränkten wir uns auf eine quantitative Untersuchung. Da jedoch bei der Sterilisierung der Milch die sog. Heu- oder Kartoffelbacillen eine Hauptrolle spielen, indem sie infolge ihrer Widerstandsfähigkeit das Sterilisieren der Milch am meisten erschweren, so wurde auf dieselben besondere Rücksicht genommen. Zu diesem Zwecke wurde die Emulsion noch 5 Minuten lang auf ca. 80—85° erwärmt und dann noch einige Platten gegossen. (Dieses Verfahren erleichtert, wie der eine von uns gezeigt hat (Landw. Jahrb. der Schweiz. 1894. Bd. VIII. p. 208), das Auffinden dieser die Gelatine verflüssigenden Bacillen sehr, indem durch das Erwärmen die meisten Bakterien abgetötet werden, während die widerstandsfähigen Sporen der Heubacillen am Leben bleiben. Die Resultate der bakteriologischen Analysen giebt Tabelle I.

Endlich wurden auch einige Proben Futter auf ihren Bakteriengehalt untersucht.

Das Gras wurde nicht bakteriologisch untersucht. Das Heu enthielt 7 500 000 Bakterien per Gramm, wovon ca. $^1/_4$ Heubacillen. Der Rest bestand hauptsächlich aus einem verflüssigenden Bacillus, der im Kote nicht wieder gefunden wurde.

In den saueren Kartoffeln waren 5 000 000 Kolonieen per Gramm enthalten, wovon ca. 10,000 Heubacillen waren. Die übrigen waren Oïdium lactis und Hefekolonieen.

Die Biertrebern enthielten 375 000 000 Kolonieen per Gramm, bestehend aus Bacterium lactis aërogenes, kleinen, nicht verflüssigenden Kokken und Hefezellen. Sie waren freilich nicht mehr frisch und waren 48 Stunden bei Zimmertemperatur gestanden.

Um den Gesundheitszustand der Kühe zu kontrollieren, wurde während der Dauer des Versuches die Milch beider Versuchskühe in Bezug auf Menge, spezifisches Gewicht und Fettgehalt einer beständigen Untersuchung unterworfen. Die daherigen Beobachtungen sind auf Tabelle II niedergelegt. Es erhellt aus derselben, daß Verdauungsstörungen, welche sich in der Schwankung der Milchabsonderung bemerkbar gemacht hätten und die ihrerseits eine Veränderung im Bakteriengehalte des Kotes hätten bewirken können, nicht vorhanden waren. Was Tabelle I betrifft, so sehen wir, wie bei allen ähnlichen Versuchen, einzelne kleine Schwankungen im Bakteriengehalte des Kuhkotes, die wohl, als innerhalb der zulässigen Fehlergrenze bei solchen Bakterienzählungen liegend zu betrachten sind, so z. B. bei Kuh I die Zahlen 10 000 000 und 12 250 000 am 19. und 21. Juni, ebenso wie bei Kuh II die Zahlen 4 000 000 und 1 800 000 an den gleichen Tagen. Auch dürfte in Betracht gezogen werden, daß die Kotuntersuchung nicht an Ort und Stelle stattfand, sondern daß die Kotproben von der Molkereischule ins Laboratorium transportiert werden mußten, was zuweilen unmittelbar nach der Kotentnahme, andere Male erst ein paar Stunden später geschehen konnte. Daß nun die kürzere oder längere Aufbewahrung des Kuhkotes dessen Bakteriengehalt beeinflußt, ergiebt sich aus Folgendem: der gleiche Kuhkot, der am 28. Juni 1894 375 000 000 Bakterien per Gramm enthielt, wies nach 24 Stunden einen Bakteriengehalt von nur noch 137 500 000 Bakterien per Gramm auf. Einzelne der in der

Tabelle I.

Einfluß der Fütterung auf den Bakteriengehalt des Kuhkotes.

Ausschließliche Grasfütterung.

Kuh Nr. 1.	Kuh Nr. 2.
1) 19. Juni 1894. 10 000 000 Bakterien per Gramm. Besonders Colibacillen, dazu verflüssigende Kokken, die in der Milch häufig sind, und einige Kolonieen von Bacillus Schafferi. Heubacillen findet man 6 280 per Gramm.	19. Juni 1894. 4 000 000 Bakterien per Gramm. Besonders Colibacillen und der verflüssigende Coccus. 10 000 Heubacillen per Gramm.
2) 21. Juni 1894. 12 250 000 Bakterien per Gramm. Bac. coli und verfl. Coccus. 5000 Heubacillen per Gramm.	21. Juni 1894. 1 800 000 Bakterien per Gramm. Fast nur Colibacillen. 4000 Heubacillen per Gramm.

Ausschließliche Heufütterung.

Kuh Nr. 1.	Kuh Nr. 2.
3) 26. Juni 1894. 20 675 000 Bakterien per Gramm. Besonders Colibacillen. Auch einige verflüssigende Kokken. Auch Bacillus Schafferi. 1 800 000 Heubacilllen per Gramm.	26. Juni 1894. 37 750 000 Bakterien per Gramm. Besonders Bac. coli. 7 200 000 Heubacillen per Gramm.
4) 28. Juni 1894. 375 000 000 Bakterien per Gramm. Besonders Bac. coli. Auch Bacillus Schafferi und nicht verflüssigende Kokken. 3 000 000 Heubacillen per Gramm.	28. Juni 1894. 187 500 000 Bakterien per Gramm. Gleiche Bakterien wie bei Kuh 1. 4 600 000 Heubacillen per Gramm.

Heufütterung mit saueren Kartoffeln.

Kuh Nr. 1.	Kuh Nr. 2.
5) 3. Juli 1894. 12 137 000 Bakterien per Gramm. Besonders Colibacillen. Heubacillen 6 000 000 per Gramm. Dazu Oïdium lactis 400 000 per Gramm.	3. Juli 1894. 7 062 500 Bakterien per Gramm. Besonders Colibacillen. Heubacillen 2 800 000 per Gramm. Dazu Oïdium lactis 200 000 per Gramm.
6) 10. Juli 1894. 23 125 000 Bakterien per Gramm. Besonders Bac. coli. Bacillus Schafferi, Oïdium lactis. Heubacillen 2 400 000 per Gramm.	10. Juli 1894. 19 375 000 Bakterien per Gramm. Besonders Bac. coli, Oïdium lactis. Heubacillen 1 400 000 per Gramm.

Heufütterung mit Biertrebern.

Kuh Nr. 1.	Kuh Nr. 2.
7) 14. Juli 1894. 19 375 000 Bakterien per Gramm. Besonders Colibacillen. Heubacillen 4 600 000 per Gramm.	14. Juli 1894. 13 125 000 Bakterien per Gramm. Besonders Colibacillen. Heubacillen 2 400 000 per Gramm.

Tabelle II.

Tabelle über die Milchabsonderung während der Dauer des Versuches.

Datum 1894	Art der Fütterung der beiden Versuchskühe	Milchmenge pro Melkzeit. Versuchskühe Nr. 1		Nr. 2		Grade d. Milchwage bei 15° C Versuchskühe Nr. 1	Nr. 2	Fettgehalt in Proz. Versuchskühe Nr. 1	Nr. 2
		morgens	abends	morgens	abends				
19. Juni	1. Periode: Ausschließliche Gras-	kg 5,650	kg 5,050	kg 5,750	kg 5,050	31,0	30,5	3,5	3,5
20. „	fütterung wie bisher	4.800	5,000	5,000	4,900	31,0	30,5	4,09	3,37
21. „		5,150	5,650	5,950	5,400	32,0	30,4	3,8	3,3
22. „	Uebergangsfütterung: Gras und	5,400	5,000	5,200	4,900	31,5	31,0	3,7	3,2
23. „	Heu	4,900	5,650	4,850	5,600	31,2	30,4	3,48	3,37
24. „	2. Periode: Ausschließliche Heu-	5,200	4,950	4,850	4.650	30,9	30,9	3,58	3,58
25. „	fütterung	5,000	5,000	5,500	4,600	31,8	30,9	3,3	—
26. „		5,100	5,000	5,000	4,400	31,7	30,9	3,27	3,48
27. „		5,000	5,600	5,300	5,000	31,4	30,7	3,37	3,27
28. „		5,210	5,800	5,400	5,150	32,0	31,7	3.7	4,2
29. „	3. Periode: Heufütterung mit Bei-	5,800	5,500	5,500	5,500	31,8	31,4	3,2	3,2
30. „	gabe von ca. 3 kg saurer Kar-	5,500	5,850	5,200	5,000	33,0	31,4	3.58	3.17
1. Juli	toffeln	5,500	5,600	4,900	4,730	30,9	30,9	3,17	3,27
2. „		6,000	5,400	5,000	4,600	—	—	—	—
3. „		5.500	5,550	6,000	4,850	32.3	31,9	3,9	3,6
4. „		5,500	5,400	5,400	4,900	30,5	30,7	3,17	3,37
5. „		5,950	5,900	5,500	5,050	31,4	30,4	3,5	3,6
6. „		6,150	6,200	5,000	4,750	30,9	31,2	3,2	3,5
7. „		6,150	5,800	5,100	5,400	31,4	31,6	3.5	3,3
8. „		5,800	5,830	5,000	5,500	—	—	—	—
9. „		5,750	6,550	6,000	5,900	—	—	—	—
10. „		6,250	6,000	5,500	5,200	31,5	30,8	3,48	3,37
11. „	4. Periode: Heufütterung mit Bei-	6.300	6,000	5,500	5,900	32,0	30,5	3,17	3,48
12. „	gabe von Biertreber, am 7. Juli	6,250	6,150	5,700	6,000	32.2	31,5	3,37	3,37
13. „	als frisch aus der Brauerei ab-	6.350	6,000	6,000	5,600	31,4	32,0	3,48	3,37
14. „	geholt; bei Beginn der Malz-	6,450	6,000	5,650	5,850	31,6	31,4	3,27	3,07
15. „	fütterung schwach, bis zum	6,100	6,200	5,650	5,800	—	—	—	—
16. „	Schluß stark sauer geworden.	—	—	—	—	—	—	—	—

Tabelle angegebenen Schwankungen mögen daher in dieser Weise erklärt werden; aber ganz davon unabhängig ist die starke Vermehrung beim Uebergange von der Grasfütterung zur Trockenfütterung, besonders nach 8 Tage langer Trockenfütterung, sowie die Verminderung, als das Heu zum Teil durch saure Kartoffeln ersetzt wurde.

Diese starke Vermehrung des Bakteriengehaltes des Kuhkotes bei Trockenfütterung war für uns etwas befremdend. Bekanntlich ist die Wintermilch, die zur Zeit der Trockenfütterung gewonnen wird, leichter zu sterilisieren als die Sommermilch; und wir hatten geglaubt, daß dieses darin seine Erklärung finden würde, daß der Kuhkot, dessen Beimischung zur Milch auch den Bakteriengehalt der letzteren besonders bedingt, bei Trockenfütterung bakterienärmer sei. Nun aber ist, wie wir gesehen, das Gegenteil der Fall. Freilich ließe sich trotzdem die leichtere Sterilisierung der Milch im Winter wohl erklären; bei Grasfütterung ist der Kot dünner, flüssiger, er gelangt daher leichter in die Milch; ferner ist die Temperatur bei Grasfütterung für die Vermehrung der Bakterien in der Milch günstiger. So läßt es sich wohl denken, daß die bei Grasfütterung gewonnene Milch, trotz des geringeren Bakteriengehaltes des Kuhkotes, sich schwerer sterilisieren läßt als die Wintermilch. Indessen müssen die Versuche noch wiederholt werden, bevor definitive Schlüsse gezogen werden können.

Hervorzuheben ist das Erscheinen von Oïdium lactis nach Beginn der Fütterung mit saueren Kartoffeln, welche gleichfalls diesen Mikroorganismus reichlich enthielten. Die Hefen dagegen, welche auch in diesem Futtermittel vorhanden waren, waren im Kot nicht mehr nachzuweisen.

Ebenfalls scheinen der in den Biertrebern enthaltene Bacillus, der uns mit Bact. lactis aërogenes idendisch zu sein schien, sowie ein nicht verflüssigender Coccus, den Verdauungstractus nicht lebend passiert zu haben.

Wie gesagt, war es uns mehr um quantitative Bestimmungen zu thun, als um ein näheres Studium der vorkommenden Bakterienspecies. Auffallend war aber das Vorherrschen von Colibacillen. Bacillenarten mit widerstandsfähigen Sporen, zu den Heu- oder Kartoffelbacillen gehörend, waren auch stets vorhanden, sowie öfters ein in der Milch häufig angetroffener, verflüssigender Mikrococcus; die nur mehr ausnahmsweise vorkommenden Arten haben wir nicht notiert. Bei eintretender Vermehrung des Bakteriengehaltes des Kuhkotes infolge Trockenfütterung betraf die Vermehrung hauptsächlich die Coli- und Heubacillen. Daß letztere sich bei Darreichung von Heu vermehren, ist begreiflich, weil dasselbe auch reich ist an Heubacillen. Die Vermehrung des Gehaltes an Colibacillen dagegen steht nicht in Beziehung zu einem besonderen Reichtum dieses Futtermittels an Colibacillen. Es ist daher die in unseren Versuchen aufgetretene Vermehrung des Bakteriengehaltes des Kuhkotes nicht etwa die Folge eines besonders hohen Bakteriengehaltes des Heues — eine Ausnahme möchten wir in dieser Beziehung nur für die Heu-

bacillen machen —, sondern beruht wahrscheinlich auf einem komplizierteren Prozesse.

Jedoch sind, wie bereits erwähnt, unsere Versuche noch zu wenig zahlreich, um allgemeine Schlüsse zu gestatten oder das Aufstellen von Hypothesen zu rechtfertigen. Immerhin schienen uns die bisherigen Resultate mitteilenswert als Anregung zu weiteren Versuchen in dieser Richtung.

Bern, 8. November 1895.

Zur Gallertausscheidung in Rübensäften.

[Mitteilung aus dem Laboratorium der Agrikulturchemischen Versuchsstation Pommritz.]

Von

Dr. Fritz Glaser.

Die früher als „Froschlaich" bezeichneten gallertartigen Ausscheidungen in Rübensäften, welche in Zuckerfabriken den Betrieb mitunter außerordentlich störend beeinflußten, sind bisher der Thätigkeit eines Spaltpilzes „Leuconostoc mesenteroides" zugeschrieben worden.

Neuerdings ist es mir gelungen, eine Bakterienart in Reinkultur zu erhalten, deren Wirkung auf Rübensäfte äußerlich betrachtet zwar vollkommen mit derjenigen von Leuconostoc übereinstimmt; im übrigen aber zeigt sie einige ganz wesentliche Unterschiede von Leuconostoc, sodaß man letzere Bakterienart nicht als identisch mit dem in Frage stehenden Spaltpilze bezeichnen darf. Vielmehr kann man die Fähigkeit, froschlaichartige Ausscheidungen in Rübensäften hervorzurufen, nicht mehr als eine für Leuconostoc mesenteroides charakteristische Eigenschaft ansehen.

Die neue Bakterienart hatte zufällig eine Rübensaftprobe infiziert, welche zur chemischen Untersuchung ausgepreßt worden war.

Auf der Oberfläche der Flüssigkeit hatte sich eine Decke gebildet, die aus perlschnurartig aneinandergereihten, stark lichtbrechenden Kolonieen bestand, deren Aeußeres genau mit der Beschreibung übereinstimmt, welche Scheibler[1]), Durin[2]) und andere Autoren bei der Untersuchung der Gallertbildungen in Rübensäften gegeben haben.

Die Reinkultur gelingt am leichtesten auf Rübensaftgelatine. Die infizierten Platten entwickelten nach etwa 24 Stunden weiße, milchige Kolonieen, welche die Gelatine rasch verflüssigten. Unter der Oelimmersionslinse beobachtet man Bakterien, die, wenn aus frischer Kultur, sich außerordentlich schnell bewegen; sie lassen sich mit Methylenblau leicht färben und stellen dann kurze Stäbchen dar,

1) Zeitschr. d. Vereins f. Rübenzuckerindustrie des deutschen Reiches. 1874. p. 309.
2) Ebendaselbst. 1876. p. 752.

welche häufig zu mehreren aneinandergereiht sind. Auf Rübensaft übertragen, wächst der Spaltpilz mit großer Schnelligkeit. Wird der infizierte Saft bei dem Temperaturoptimum von 40—45° gehalten, so zeigt sich schon nach wenigen Stunden eine schwache Gasentwicklung, nach etwa 12 Stunden ist die ganze Oberfläche des Rübensaftes mit einer gallertartigen Haut überzogen. Höhere Temperatur hemmt das Wachstum der Bakterien, ohne sie zu töten; man kann den Saft sogar längere Zeit auf 100° erhitzen, ohne daß sie ihre Lebensfähigkeit einbüßen. Auf Bierwürze wächst der Spaltpilz unter den gleichen Erscheinungen wie auf Rübensaft, aber bedeutend langsamer. Auf neutraler zehnprozentiger Melasse ist dagegen keine Entwicklung zu beobachten, ein Hauptunterschied von Leuconostoc mesenteroides, der auf Melasse gerade ein außerordentlich schnelles Wachstum zeigt. Ueberträgt man aber den schleimigen Niederschlag aus Rübensaft, der nach Zusatz von Alkohol aus diesem ausfällt, auf neutrale zehnprozentige Melasse, so erhält man auf letzterer die gleichen gallertartigen Ausscheidungen wie aus Rübensaft.

Dieselbe Erscheinung beobachtet man, wenn man die durch Alkohol aus Rübensaft ausgefällten schleimigen Massen verascht und die Asche der Melasse zusetzt. Hieraus folgt, daß die im Rübensaft vorhandenen und durch den Saturationsscheidungsprozeß ausgefällten anorganischen Körper, wie Phosphorsäure, Eisenoxyd, Magnesia, zur Entwicklung des Spaltpilzes notwendig sind.

Mit der Gallertbildung geht eine Zersetzung des Rübenzuckers vor sich, wie dies die schon nach kurzer Zeit recht erhebliche Abnahme der Polarisation beweist. Während man aber bei Leuconostoc als Gärungsprodukt Milchsäure konstatierte, bildet sich durch die Zersetzungsthätigkeit des in Frage stehenden Spaltpilzes Alkohol in beträchtlicher Menge; der Rübensaft nimmt einen kleisterartig sauren Geruch an, läßt aber durch keine Reaktion Milchsäurebildung erkennen. Destilliert man den vergorenen Saft, so geht ein neutral reagierender Körper über, welcher eine starke Jodoformreaktion zeigt, sich demnach als Alkohol erweist. Der vergorene Saft wirkt stark reduzierend auf Fehling'sche Lösung; der Gärungsprozeß wird also mit der Inversion des Rübenzuckers eingeleitet. Die Gallerte zeigt im wesentlichen dieselben Eigenschaften, wie das von Scheibler und anderen Autoren beschriebene Rübengummi. Sie ist in verdünnten Säuren in der Wärme löslich; die salzsaure Lösung reduziert Fehling'sche Lösung unter Abscheidung des roten Kupferoxyduls, die schwefelsaure Lösung giebt eine grüngelbe Fällung. In Alkalilaugen ist die Gallerte leicht löslich, dagegen unlöslich in Barytwasser und Kalkmilch.

Wir haben also nach vorstehendem einen mit dem sogenannten „Froschlaichpilz“ in seiner äußeren Wirkung nach ähnlichen, in bezug auf einzelne Wachstums- und Gärungserscheinungen aber wesentlich verschiedenen Spaltpilz vor uns. Wegen seiner Gallertbildung auf Rübensäften möchte ich für den beschriebenen Spaltpilz den Namen „Bacterium gelatinosum betae“ vorschlagen.

23. September 1895.

Ueber die durch Ascochyta Pisi Lib. hervorgerufene Wurzelkrankheit der Erbsen.

Von

Dr. L. Hiltner

in

Tharand.

In No. 17 des Centralblattes berichtet F. Krüger über das abnorme Auftreten von Ascochyta Pisi Lib., eines Pilzes, der bisher nur als Erreger von ziemlich bedeutungslosen Flecken an Stengeln, Blättern und Schoten bekannt war, in den zwei von ihm beobachteten Fällen jedoch die Erbsenpflanzen, vom Wurzelhals beginnend, vollständig vernichtete. Der Pilz war hier, wie Verf. des näheren durch eigene Versuche und durch Hinweis auf noch nicht veröffentlichte Experimente von Jarius darthut, bereits im Innern der Samen enthalten gewesen und von diesen aus auf die jungen Pflänzchen übergegangen.

Gleich eingangs seines Berichtes verweist Krüger auch in Kürze auf einige diesbezügliche Beobachtungen, die ich gelegentlich eines mit Erbsenpflanzen an der Versuchsstation Tharand vorgenommenen physiologischen Versuches gemacht habe. Während es sich aber bei diesen nur um ein vereinzeltes Absterben einiger weniger Pflanzen gehandelt hätte, bezögen sich seine Mitteilungen auf das vollständige Mißraten der im großen Maßstabe angebauten Feldfrucht.

Diese Gegenüberstellung, welche geeignet erscheint, die Bedeutung meiner bereits im Januar 1893 erfolgten Mitteilung über die bis dahin noch völlig unbekannte Ascochyta-Krankheit der Erbsen erheblich abzuschwächen, giebt mir Veranlassung, näher zu erörtern, inwieweit durch die Krüger'sche Publikation gegenüber meinen damaligen Ausführungen neue Thatsachen festgestellt worden sind.

Mein Bericht über die Krankheit ist in dem amtlichen Organ der Versuchsstation Tharand, der Sächsischen landw. Zeitschrift, als Teil eines größeren Aufsatzes über die Beziehung verschiedener Pflanzenkrankheiten zu dem Saatgute erschienen und fand von hier aus zwar in viele landwirtschaftliche Blätter, nicht aber in rein wissenschaftliche Zeitschriften Eingang. Es dürfte daher nicht unangebracht sein, denselben hier im Wortlaut wiederzugeben.

„Vielfach ist schon über das Mißraten der Erbsen geklagt worden, ohne daß es bisher mit Sicherheit gelungen wäre, den Grund hierfür ausfindig zu machen. Dasselbe kann nach meinen Beobachtungen im Samenmaterial selbst begründet gewesen sein. Im Jahre 1892 benützten wir zu unseren Versuchen über die Stickstoffaufnahme der Leguminosen eine frisch bezogene, dem Aussehen nach gute Erbsensorte (Braunschweiger Folger-Erbse), die zu 92 Proz. keimte. Die Keimlinge erschienen vollständig gesund, während die 8 Proz. nicht keimender Samen sehr bald verpilzten. Die vorgekeimten Erbsen wurden in ausgeglühten, mit Nähr-

stoffen genügend durchtränkten Sand eingesetzt und die jungen Pflänzchen stets mit ausgekochtem Wasser begossen, der Sand außerdem noch mit ebenfalls sterilisierter Watte bedeckt, sodaß von außen kaum Pilzkeime zugelangen konnten. Mehrere Wochen hindurch wuchsen die Pflanzen außerordentlich gut und üppig, aber nachdem sie bis zum Beginn der Blüte vorgeschritten waren, begann ein auffallender Stillstand im Wachstum, der sich aus den Versuchsbedingungen durchaus nicht erklären ließ. Die Pflanzen gingen bald vollständig ein und zwar unter allen Erscheinungen einer Wurzelkrankheit. Eine nähere Untersuchung ergab in der That, daß der Wurzelhals gefault war und zwar ging die Fäulnis stets von der Stelle aus, wo die Wurzel mit den Ueberresten des Samens in Berührung gekommen war. Die Vermutung, daß hier zunächst die Samen faulten und dann der Erreger dieser Fäulnis auf die Wurzel übergegangen, fand sich bestätigt, als wir im freien Lande diese Erbsensorte im Vergleich mit einer anderen aussäten. Anfangs hielten beide Sorten im Wachstum ungefähr gleichen Schritt, allmälich aber blieb die verdächtige Sorte immer mehr zurück und brachte es nicht weiter als zur Blüte, wärend die dicht danebenstehende Vergleichssorte kräftig weiter wuchs.

Ich habe infolge dieses auffallenden Vorkommnisses die betreffenden Erbsensamen einer näheren Prüfung unterzogen und fand, daß dieselben von einem Pilze befallen waren, der bei einem ziemlich starken Bruchteil der Samen schon in das Sameninnere eingedrungen war, ohne daß er die Keimkraft erheblich beeinträchtigt hätte. Bei fast allen Samen war die Gegenwart dieses Pilzes von vornherein kaum wahrzunehmen; erst nach dem Keimen derselben begann er allmälich aus dem Sameninnern hervorzubrechen. Nach 2—3 Wochen hatte er unter der Samenschale ein dichtes Geflecht von Fäden gebildet, aus denen sich kleine Früchtchen entwickelten, die sich als eine Ascochyta-Art erwiesen. Dieselbe ist schon seit längerer Zeit bekannt, bisher aber nur auf Erbsenschoten beobachtet worden. Hiernach erscheint es sehr wahrscheinlich, daß der Schädling bei der Ernte von den Schoten auf die jedenfalls noch nicht ganz ausgetrockneten Samen gelangte und sich auf denselben ansiedelte. Würde sich diese Vermutung bei weiteren Untersuchungen bestätigen, so gäbe dies einen Fingerzeig, wie man der Ansteckung der Samen vorbeugen könnte. Sind dieselben schon befallen, so würde jedenfalls auch hier Warmwasserbehandlung sich als nützlich erweisen, doch habe ich über diese Frage bisher Versuche noch nicht anstellen können.

Ist es auch als ganz bestimmt anzunehmen, daß diese eigentümliche Krankheit häufiger auftritt, aber wie es thatsächlich geschehen ist, mehr den Witterungsverhältnissen zugeschrieben wird, so möchte ich doch nicht behaupten, daß dieselbe die Ursache der eigentlichen Erbsenmüdigkeit eines Bodens sei, wenngleich natürlich die Möglichkeit zuzugeben ist, daß der einmal mit den Samen in den Boden gebrachte Pilz diesen auf längere Zeit hinaus verseucht".

Daß die beregte Krankheit nur an einzelnen wenigen Pflanzen aufgetreten sei, ist, wie man sieht, nirgends gesagt. Im Gegenteil kann nach meinem Dafürhalten der obigen Darstellung nur entnommen werden, daß — wie es thatsächlich der Fall war — sämtliche Versuchspflanzen durch dieselbe zugrunde gingen. Zu dem Topf-

versuche hatten 80 Erbsenkeimlinge, zum Feldversuche je 100 Samen Verwendung gefunden. Das Ergebnis des letzteren wäre selbstverständlich das Gleiche gewesen, wenn statt einiger Quadratmeter 1 Ar oder eine noch größere Fläche mit dem pilzbehafteten Saatgute bestellt worden wäre. Die beiden von Krüger auf freiem Felde beobachteten Fälle können demnach wohl nur als Bestätigung meiner Voraussage gelten, daß die eigentümliche Krankheit durchaus nicht als neu, sondern als häufige Ursache des vielfach beobachteten Mißratens der Erbsen anzusehen sei. Verschiedene Fälle, bei denen sicher Ascochyta eine wesentliche Rolle gespielt hatte, waren mir schon zur Zeit meiner Veröffentlichung aus der Litteratur bekannt; ich erinnere nur an das Absterben der Viktoriaerbsen in Wickersen bei Eschershausen, wo nach einem Bericht der Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten (1892, S. 284) auf einem 10 ha großen Erbsenstück die Pflanzen abstarben.

Wenn man in solchen Fällen das Wesen der Krankheit vollständig verkannte, und diese deshalb meist abnormen Witterungs- oder Bodenverhältnissen zuschrieb, so muß man wohl annehmen, daß bei denselben eine Schwärzung und Verpilzung der oberirdischen Organe, wie sie von Krüger beobachtet wurde, nicht eingetreten sei. Unmöglich hätte man doch die charakteristischen Pykniden der Ascochyta übersehen können. Mehrmals wird ja sogar ausdrücklich hervorgehoben, daß parasitische Pilze, denen die Krankheit hätte zugeschrieben werden können, nicht aufzufinden waren. Schon aus diesen Gründen müßte man die Folgerung ziehen, das Auftreten der Ascochyta an Stengeln und Blättern der Erbsenpflanzen gehöre nicht zu den charakteristischen Merkmalen der in Rede stehenden Krankheit. Meine eigenen Beobachtungen liefern für die Richtigkeit dieser Folgerung den Beweis. Bei sämtlichen Versuchspflanzen des Jahres 1892, welche durch Ascochyta eingingen, beschränkte sich der Pilz auf den Wurzelhals und verschiedene Wurzeläste; in den allmälich vertrocknenden Blättern ließ sich Mycel nicht nachweisen. Auch heuer konnte ich an kranken Erbsenpflanzen die gleiche Wahrnehmung machen: Die Blätter zeigten zunächst eigentümlich mißfarbige Flecke, welkten leicht bei direkter Besonnung und vertrockneten schließlich vollständig, ohne schwarz zu werden; das Pilzmycel aber war vom Wurzelhals nur wenige Centimeter in den Stengel vorgedrungen und hatte also die abnormen Erscheinungen an den Blättern nur indirekt hervorgerufen. Jedenfalls befällt demnach Ascochyta den Gesamtorganismus der Erbsenpflanzen in der Weise, wie es von Krüger beschrieben worden, nur unter gewissen Witterungsverhältnissen und erst nachdem die Pflanzen bereits durch die Infektion des Wurzelhalses geschwächt oder abgestorben sind. Daß die Wurzelbräune der Erbsen, wie ich der Kürze halber die durch Ascochyta Pisi veranlaßte Erkrankung des Wurzelhalses nennen will, ungemein verbreitet sein muß, ist nach den Ergebnissen meiner nunmehr seit drei Jahren durchgeführten Untersuchung verschiedener Proben von Erbsensamen, die an der hiesigen Samenkontrollstation zur Qualitätsbeurteilung eingingen, mit Sicherheit anzunehmen; denn fast der dritte Teil dieser allerdings nicht sehr zahlreichen Proben erwies sich in mehr oder minder hohem

Grade von Ascochyta befallen. Unter diesen Umständen und in anbetracht des statistischen Ergebnisses, daß in Deutschland über 400,000 ha allein im landwirtschaftlichen Betrieb mit Erbsen bebaut werden, erscheint die Frage gewiß von praktischer Bedeutung, ob es möglich sei, ein von Ascochyta befallenes Saatgut auf irgend eine Weise von dem gefährlichen Parasiten zu befreien. Krüger giebt an, ich hätte ev. Beizung des Saatgutes empfohlen, weist aber zugleich durch eingehende Versuche nach, wie nutzlos eine solche in diesem Falle sei, da jedes der angewendeten Beizmittel die Erbsensamen selbst frühzeitiger töte als den im Innern derselben enthaltenen Pilz. Es bliebe demnach nichts anderes übrig, als der Krankheit vorzubeugen. Jedes gekaufte Erbsensaatgut müßte nicht nur auf die Keimkraft, „nach der man in der Landwirtschaft die Güte einer Saat beurteilt“, sondern auch auf die Anwesenheit von Ascochyta geprüft werden. Zeige sich der Pilz, so seien die Samen als schlecht zu verwerfen und als zu Saatzwecken ungeeignet zu bezeichnen.

Ich habe hierzu zunächst zu bemerken, daß die Annahme, man beurteile den Wert landwirtschaftlicher Saatwaren nur nach der Keimkraft, nicht ganz zutreffend ist. Was speziell das Auftreten schädlicher Pilze an oder in den Samen betrifft, so habe ich selbst bereits in dem beregten Artikel der Sächsischen landwirtschaftlichen Zeitschrift darauf hingewiesen, wie notwendig es sei, daß an den Samenkontrollstationen hierauf mehr geachtet würde als es bis dahin der Fall war, wie wohl am besten aus folgendem Satze hervorgeht:

„Bevor durch ausgedehnte Versuche mit den verschiedensten Samenarten nicht eine sichere Grundlage geschaffen ist (derartige Schädlinge durch wirksame Beizung oder dgl. zu bekämpfen), wird der Landwirt daher am besten an der Regel festhalten, von der Verwendung eines Saatgutes abzusehen, welches in irgend einer Weise in dem eben erläuterten Sinne verdächtig erscheint. Es wird Aufgabe der Versuchsstationen sein, über Sämereien auch nach dieser Richtung hin gegebenen falles den Einsendern Aufklärung zu geben“.

Krüger und ich befinden uns also in dieser Beziehung in vollständiger Uebereinstimmung. Ich muß jedoch offen gestehen, daß es mir leichter scheint, einen solchen Ratschlag, wie er in den obigen Zeilen enthalten ist, zu geben, als ihn unter Umständen auch zu vertreten. Erst in diesem Jahre haben mir Erbsensamen vorgelegen, die zu 100 Proz. keimten, von denen aber ungefähr 5—6 Proz. sich von Ascochyta befallen erwiesen. Durfte man nun hier ohne weiteres dem einsendenden Landwirt von der Verwendung der Saat abraten und dadurch Veranlassung geben, daß dieselbe dem Lieferanten zur Verfügung gestellt wurde? Konnte man in einem ev. Prozeß das Urteil, die Erbsensamen seien als Saatgut untauglich, wirklich sicher begründen? Ich meine, um auf diese Fragen sich selbst eine befriedigende Antwort geben zu können, hätte man zuvor vor allem wissen müssen, ob unter den aus diesem Saatgute hervorgehenden Pflanzen der Prozentsatz kranker Individuen ebenfalls nur 5—6 Proz. betragen oder ob er erheblich höher sein würde. Um hierüber Gewißheit zu erlangen, habe ich ungefähr 50 der betr. Samen ausgesät. Das Resultat war, daß sämtliche auflaufende Pflänzchen, nachdem sie mehrere

Wochen hindurch sich ganz gesund entwickelt hatten, bald ein krankhaftes Aussehen aufwiesen und schließlich fast ohne Ausnahme unter den für die Erbsenwurzelbräune charakteristischen Erscheinungen eingingen. Erinnert man sich nun noch daran, daß schon bei dem von mir im Jahre 1892 angestellten Versuche die Pflanzen sämtlich erkrankten, obgleich auch bei dem damals zur Verwendung gelangten Saatgute nur bei einem Bruchteil der Samen die Gegenwart des Pilzes im Sameninnern nachzuweisen war, daß ferner auch Krüger in den beiden von ihm beschriebenen Fällen von einem vollständigen Mißraten der im großen Maßstabe gebauten Feldfrucht spricht, ohne anzugeben, ob auch sämtliche Samen des Saatgutes befallen waren, so darf man wohl mit einem gewissen Grade von Sicherheit die Folgerung ziehen: Ein Erbsensaatgut wird voraussichtlich fast lauter kranke und frühzeitig absterbende Pflanzen liefern, auch wenn nur bei einem ganz geringen Prozentsatz der Samen Ascochyta im Sameninnern sich auffinden läßt.

Da ein Wandern des Ascochyta-Mycels, d. h. ein Uebergreifen desselben von kranken auf benachbarte gesunde Erbsenpflanzen bisher noch nicht beobachtet worden, so läßt dieses Ergebnis nur schwer eine andere Deutung zu, als daß auf der Oberfläche der während der Keimungsperiode gesund gebliebenen Erbsensamen Sporen des Pilzes vorhanden waren, die erst später, im Boden, ein Mycel entwickelten. Verhält es sich aber so, dann muß natürlich die Beizung der Samen mit Mitteln, welche solche oberflächlich haftende Sporen töten, ohne zugleich die Samen selbst schädlich zu beeinflussen, einen großen Vorteil bieten. Ein wirksam gebeiztes Erbsensaatgut kann dann prozentisch nur so viel kranke Pflanzen liefern, als Samen im Innern von Ascochyta befallen waren. Nur in diesem Sinne habe ich mir von einer ev. Beizung pilzbehafteter Erbsensamen einen Erfolg versprochen; daß ich nicht daran gedacht, mit Beizmitteln dem im Innern der Samen vegetierenden Pilze beikommen zu können, ohne zugleich die Samen selbst zu schädigen, wird man als selbstverständlich erachten. Ohne weiteres vermag ich mich sonach der Anschauung Krüger's, die Samenbeize sei in diesem Falle wertlos, nicht anzuschließen. Gegen die Richtigkeit meiner Vermutung, es möchten den Erbsensamen äußerlich anhaftende, durch Beizung also leicht zu vernichtende Ascochytasporen erst nach einer gewissen Frist keimen, scheint allerdings die Beobachtung zu sprechen, daß frische, eben erst aus dem Pyknid ausgestoßene Sporen bereits innerhalb 24 Stunden zu keimen beginnen. Es ist aber jedenfalls nicht ausgeschlossen, daß ältere, längere Zeit an der trockenen Oberfläche der Samen haftende Sporen, ihre Fähigkeit, rasch zu keimen, verlieren; ja es erscheint fast als sicher, daß sie innerhalb Jahresfrist bei trockener Aufbewahrung der Erbsensamen überhaupt zugrunde gehen; denn als ich im Frühjahr 1893 von demselben Saatgute, welches im Jahre zuvor ausschließlich kranke Pflanzen geliefert hatte, wieder Aussaaten in verschiedenen Bodenarten vornahm, um den näheren Verlauf der Krankheit studieren su können, blieben die Pflanzen gesund bis auf wenige Prozente, bei denen überdies die Wurzelbräune in weit geringerem Grade auftrat als im Vorjahre. Der Pilz war demnach nur

in den Fällen lebensfähig geblieben, wo sein Mycel im Innern von Samen vor der Wirkung der Trockenheit geschützt war. Hieraus folgt, daß ein von Ascochyta nicht allzustark befallenes Erbsensaatgut noch zur Saat Verwendung finden kann, nachdem es ein Jahr lang sehr trocken aufbewahrt worden ist.

Die Art und Weise, in welcher die Infektion der Erbsensamen erfolgt, konnte ich im Sommer 1894 beobachten. Aus einem Garten in der Nähe Freibergs wurden mir Erbsenpflanzen übergeben, die gänzlich geschwärzt waren und daher den Verdacht erregten, es liege eine Beschädigung durch Rauch vor. Die nähere Untersuchung ergab indessen, daß es sich ausschließlich um die Wirkung zweier Pilze, nämlich Ascochyta Pisi Lib. und Sphaerella pinodes (B. et Blox) Niesl handelte. Sphaerella herrschte vor, insbesondere auf den Stengeln, Blättern und Ranken; Ascochyta war hauptsächlich auf ziemlich scharf begrenzten Flecken der Schoten vorhanden. Das gemeinsame Vorkommen und die große Aehnlichkeit der Früchtchen und Sporen machen eine Zusammengehörigkeit beider Pilze sehr wahrscheinlich; leider fehlte es mir an Zeit, hierüber nähere Untersuchungen anzustellen.

Die Ascochyta-Flecke auf den Schoten durchsetzten stets die Fruchtwand und das in ihnen wuchernde Pilzmycel war auf die direkt anliegenden Samen übergegangen. Von den aus sämtlichen verfügbaren Schoten entnommenen Samen erwiesen sich gegen 15 Proz. pilzfleckig; die übrigen erschienen vollständig gesund, würden aber beim Ausdreschen von den reifen Pykniden aus reichlich durch Sporen infiziert worden sein. Das von diesen Erbsen durch Drusch gewonnene Saatgut hätte demnach wieder ausschießlich kranke Pflanzen geliefert, zumal anzunehmen ist, daß auch die nicht pilzfleckigen Samen infolge der Verpilzung der Schoten in ihrer Entwickelung etwas gestört wurden und dadurch für die Krankheit prädisponierte Pflanzen geliefert haben würden.

Ob Ascochyta Pisi eine selbständige Species (bzw. Fruchtform) darstellt, oder wie Frank vermutet, identisch ist mit A. Phaseolorum u. dgl., bleibt noch zu entscheiden. Die Wahrscheinlichkeit spricht dafür, daß es sich hier nur um spezialisierte Formen im Sinne Erikssons handelt. Erwähnen möchte ich nur, daß ich im Sommer 1895 eine Ascochyta-Art, die von A. Pisi kaum zu unterscheiden war, als höchst gefährlichen Feind des Rotklees kennen gelernt habe. Der Pilz brachte in einem Kleegrasgemisch den gut aufgelaufenen Klee allmälich vollständig zum Verschwinden; dabei ist dle Thatsache nicht ohne Interesse, daß die betr. Rotkleepflanzen der Amerikanischen Varietät angehörten.

6. Dezember 1895.

Referate.

Bau, A., Ueber ein neues Enzym der Hefe. (Chemiker-Zeitung. 1895. No. 83).

In der Abhandlung „Ueber Melitriose und deren quantitative Bestimmung“ (Chemiker-Ztg. 1894, p. 1794) sprach Verf. die Meinung aus, daß Melitriose direkt nicht vergärbar sei. Auch die Melibiose müßte durch das „Invertin“ der Unterhefe zerlegt werden, um vergärbar zu werden. Zur Entscheidung dieser Frage wurde die Einwirkung des „Invertins“ aus Ober- und Unterhefe auf Melibiose studiert. Angewendet wurden Reinkulturen vom Frohbergtypus.

Die Hefe wurde gewaschen, abgepreßt, bei 30—35° C. getrocknet, langsam auf 100° C. erwärmt, 6 Stunden lang bei dieser Temperatur gehalten, fein gemahlen und mit Wasser ausgezogen. Der Auszug zeigte gegenüber Rohrzucker starke Invertinwirkung. Er wurde mit einer 3 % Melitrioselösung vermischt, 24 Stunden bei 25° C. gehalten, darauf unter Zusatz von Thierkohle gekocht, filtriert und auf Osazon verarbeitet. Sowohl bei Ober- wie bei Unterhefe wurden reichliche Mengen Melibiosazon neben einem Monosazon (wahrscheinlich reines Glucosazon aus Fructose) erhalten.

Das gleiche Resultat wurde erhalten, als einerseits dieselbe Invertinlösung, andererseits eine conc. Invertinlösung (durch Selbstgärung erhalten) mit Melitriose und Chloroformwasser 72 Stunden bei 25° C. behandelt wurde.

Bei diesen Versuchen wurden immer große Mengen Melibiosazon erhalten, woraus Verf. berechtigt war zu schließen, daß „Invertin“ auf Melibiose nicht oder nicht nachweisbar einwirkt; denn geringe Mengen von Galactorazon lassen sich neben Glucosazon nicht nachweisen. Daher mußten Versuche mit reiner Melibiose gemacht werden.

Hefereinkultur von Ober- und Unterhefe (Frohbergtypus) wurde gewaschen, gepreßt, langsam getrocknet, 4 Stunden bei 100° C. erhitzt, gemahlen nnd in je zwei Portionen im Kölbchen mit Seitenrohr unter Watteverschluß wiederum 4 Stunden auf 100° C. erhitzt. Nach dem Abkühlen wurde das eine Kölbchen mit Oberhefe und sterilem Wasser, das andere mit 70 ccm 3-proz. Melibioselösung unter Vermeidung von Infektion beschickt und mit den beiden Kölbchen, welche Unterhefe enthielten, in gleicher Weise verfahren. Darauf blieben dieselben 14 Tage im Thermostaten bei 28° C. und wurden dann untersucht.

Der Inhalt der mit Wasser beschickten Kölbchen war während dieser Zeit steril geblieben und zeigte gegen Rohrzucker eine kräftige Invertinwirkung. Die Lösungen enthielten keinen Zucker. Hierdurch wurde eine frühere Beobachtung bestätigt, während nach Salkowsky frische Hefe, in Chloroformwasser aufbewahrt, Fructose erzeugen soll. Die mit Ober- und Unterhefe behandelte Melibioselösung wurde abfiltriert, mit Tierkohle gekocht, filtriert und mit der berech-

neten Menge essigsaurem Phenylhydrazin $1^1/_2$ Stunden im Wasserbade erhitzt, um die Osazone zu erhalten. Bei der Probe aus Oberhefe blieb die Lösung klar, bei der Unterhefe entstand ein Krystallbrei. Beide wurden in heißes Wasser gegossen und langsam erkaltet. Die Lösung aus Oberhefe schied nun ebenfalls ein Osazon aus.

Die Osazone wurden in bekannter Weise weiter behandelt und es ergab sich, daß die mit Oberhefe versetzte Lösung nur Melibiosazon lieferte (unter Ausschluß einer Spur von Monosazon), die mit Unterhefe digerierte Flüssigkeit nur Monosazon, dagegen kein Melibiosazon. Die Osazone wurden durch ihre physikalischen Eigenschaften charakterisiert. Während für das Melibiosazon der normale Schmelzpunkt gefunden wurde, schmolz das Monosazon (Gemisch von Glucosazon und Galactosazon) bei 211—212° (unkorrigiert), nachdem es bei 205° anfing zu sintern und bei 217° unter Gasentwickelung sich zersetzte. Durch diesen Versuch war erwiesen, daß die Enzyme der Oberhefe Melibiose nicht zu zerlegen vermögen, während letztere durch Unterhefe in ihre beiden Monosen (Glucose und Galactose) gespalten wird. Die Frage, ob Melibiose direkt gärungsfähig sei, ist damit in dem Sinne entschieden, daß dieser Zucker erst in seine Komponenten zerlegt werden muß, um gärungsfähig zu sein.

Der Beweis, daß Melibiose bei Gegenwart eines Enzyms der Unterhefe auch für Oberhefe vergärbar ist, wurde so geführt, daß auf sterile, aber noch enzymhaltige Unterhefe eine sterile, etwa 3-proz. Melitrioselösung gegossen und diese, mit einer größeren Menge reiner Oberhefe geimpft, bei 25° C. der Vergärung überlassen wurde. Aus diesem Versuch ging hervor, daß Melitriose und ihre Komponenten, Fructose und Melibiose, bei Gegenwart eines Enzyms der Unterhefe auch durch Oberhefe vollständig oder zum mindesten nahezu vollständig vergoren wurden.

Die Verbindung in der Unterhefe, welche Melibiose in die beiden Monosen zerlegt, nennt Verf. Melibiose; Oberhefe enthält Melibiose nicht.

In der Hefe, d. h. den Arten des Sammelbegriffes Saccharomyces cereoisiae, kommen also die folgenden Enzyme vor:

1) Invertin, löslich in Wasser, fällbar durch Alkohol. Das Invertin ist allen bisher untersuchten Arten der Gruppe S. cerevisiae gemeinsam. Die von Kellner, Monori und Nagasaki studierte Invertase ist nach Bau entweder ein besonderes Enzym oder ein Gemisch zweier Enzyme, von denen das eine Invertin sein kann. Die verschiedenen Invertane der englischen Chemiker stellen wahrscheinlich nur verschiedene Zersetzungsprodukte des Invertins dar. Da also verschiedene Bezeichnungen gebraucht werden, schlägt Verf. für den Körper, welcher nur Rohrzucker in Invertzucker und Melitriose in Fructose und Melibiose spaltet, den Namen Euinvertin oder auch Euinvertase vor.

2) Hefenglycase oder Hefenglucase. Dieses Enzym ist unlöslich in Wasser und spaltet Maltose und Isomaltose in Glucose. Die Hefenglucose wurde von C. J. Lintner entdeckt und von Emil Fischer und anderen genauer studiert. Sie ist ebenfalls allen Arten der Gruppe S. cerevisiae gemeinsam.

3) Melibiase. Dieses Enzym tritt nur in der Unterhefe auf.

Bei der obergärigen Hefe vom Typus Saaz fehlt zwar noch der entscheidende Versuch, jedoch schließt Verf. aus dem Gärungsvermögen, daß sie die Melibiose ebensowenig besitzt wie die Frohberg-Oberhefe.

In der untergärigen Hefe vom Frohbergtypus findet sich Melibiose und wahrscheinlich auch in der untergärigen Saazhefe, da auch diese Melibiose vergärt. Diese Annahme ist aber noch zu prüfen.

Mittelst Diastase, welchen Begriff Wysmann in Maltase und Dextrinase gespalten hat, konnte Bau eine Einwirkung weder auf Melitriose noch Melibiose konstatieren. Hoffmann (Berlin).

Fischer, Emil und **Lindner, Paul,** Ueber Enzyme einiger Hefen. (Wochenschrift f. Brauerei. 1895. p. 959.)

Die Annahme, daß der Vergärung der Poly-Saccharide durch Hefen die Hydrolyse voraufgehe, ist oft bestätigt. Eine erneute Prüfung aber wünschenswert; daher die folgenden Versuche.

Verhalten der Melibiose gegen Bierhefen.

Die Unterhefen vom Typus Frohberg und Saaz enthalten ein Enzym, welches die Melibiose spaltet. Es läßt sich aus den getrockneten Hefen mit Wasser auslaugen. Reinkulturen wurden vollständig von der Nährflüssigkeit befreit, auf porösem Thon 3 Tage an

Versuch	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI
Melibiose	0,3	0,3	0,5	0,25					0,5		0,3
F. U.	3 ccm Auszug 20 Stdn bei 35°		5 ccm Wasser 0,5 g trockene Hefe 0,05 g Toluol								
S. U.		Auszug		2,5 g Wasser 0,12 g trockene Hefe 0,025 g Toluol							
F. O.					Versuche V—VIII genau wie I—IV angestellt				5 ccm Wasser 0,25 g ganz frische Hefe		
S. O.										wie IX	
Invertin											1,5 g Wasser 0,3 g Invertin
Phenylhexosazon	0,05 g	0,04 g	0,33 g	0,031 g	0	0	0	0	0	0	0

der Luft bei 20—25° getrocknet, zerrieben, mit der zwanzigfachen Menge Wassers 20 Stunden bei 33° ausgelaugt, und die Lösung möglichst geklärt.

Glukose und Galaktose, die Spaltungsprodukte, wurden mittelst der Phenylhydrazinprobe nachgewiesen. Um Gärung zu verhindern, wurde dem Auszug Toluol hinzugefügt.

Bemerkungen zu der Tabelle:

1) Die Wirkung der Hefen war etwas stärker als die der Auszüge.

2) Die Oberhefen enthalten selbst im ganz frischem Zustande kein Melibiose spaltendes Enzym.

3) Gut wirkendes Invertin, selbst in großer Menge angewendet, spaltet die Melibiose nicht. Hoffmann (Berlin).

Lindner, P., Die Vegetationsverhältnisse im untergärigen Bier während der Nachgärung. (Wochenschrift f. Brauerei. 1895. p. 477 [1].)

Für die norddeutschen Biere galt festzustellen, inwieweit Nachgärungshefen verbreitet sind und welche Rolle ihnen zukommt. Die unlängst eingeführte Tröpfchenkultur eignete sich ausgezeichnet für diese Untersuchungen. Eine größere Anzahl Brauereien Mitteldeutschlands wurde besucht. Die Ausrüstung für diese wissenschaftliche Expedition bestand in folgendem:

Ein Etui aus Pappkarton [2]) enthielt 40 hohle Objektträger, auf die mittelst eines Vaselinringes je ein steriles Deckgläschen aufgedrückt worden war. Ein Mikroskop, mehrere Zeichenfedern, etwas Watte, ein Spiritusfläschchen, 40 kleine, ungefähr 5 cm lange, mit Wattepfropf versehene sterile Glasröhrchen.

In der Mehrzahl der Brauereien wurde mit Reinzuchtapparaten gearbeitet. Fast überall wurden zwei Kulturrassen verwendet, eine stärker und eine schwächer vergärende. Man vermischte sie aber nicht, sondern erst die Biere davon wurden auf das Lagerfaß zusammen geschlaucht.

Die Tröpfchenkulturen wurden unmittelbar, nachdem die Bierproben aus dem Keller gebracht waren, angelegt. Ein Wattebausch, mit Spiritus getränkt, wurde jedesmal entzündet und die Feder in der Flamme sterilisiert. Wenn die Feder gut anspricht, kann man in einer halben Minute 30—50 Tröpfchen auftragen. Während dieser Zeit ist, bei der Kälte des Bieres, die Verdunstung sehr gering.

Es sei hier aus der Originalarbeit Brauerei F angeführt.

Bottichbier.

8 Tage alt, stärker vergärende Hefe, 40 Tropfen, 250 normale Zellen, 1 wilde Hefezelle;
11 „ „ schwach „ „ 38 „ 120 „ „ 9 „ Hefen.

Lagerbier, Hefen gemischt.

3 1/2 Wochen alt, 53 Tropfen gaben 4 normale Hefen, 2 Torula, 7 wilde Hefen;
7 1/2 „ „ 45 „ „ 4 Torula, 1 wilde sporenbildende Hefe.

---

1) Das Original dieser Abhandlung ist bereits vorher in dem Compte-rendu des vorjährigen Brüsseler internationalen Kongresses für angewandte Chemie veröffentlicht.

2) Bei Altmann, Berlin N. Luisenstraße, zu erhalten.

Die Torula vermehrte sich auf 20 000 Zellen pro Tröpfchen.

Dieselbe Brauerei hat später auch Biere von jeder Hefe allein geschlaucht und fortlaufende Proben eingesandt.

Stammwürze 12,5 Balling.

Hefengabe 0,6 l pro Hektoliter.

Temperatursteigerung im Bottich bis 7° R., darauf 3 Tage gehalten, dann langsam abgekühlt, am 10. Tage bei einem scheinbaren Vergärungsgrad von 47,2 und 57,6 Proz. geschlaucht. Die Fässer wurden mit 3tägigen Zwischenräumen in 10 Tagen vollgeschlaucht. Die Untersuchung fand am Tage nach der Probeentnahme in Berlin statt.

Bier I schwächer vergärende Hefe
„ II stärker „ „ (Dortmunder)
„ III Mischung beider zu gleichen Teilen.

Tabelle über den Verlauf der Vergärung und die Zellenbefunde.

	Bier I				Bier II				Bier III				Bemerkungen
	° Bll.	in 35 Tröpfchen sind: Hefe-Zellen			° Bll.	in 35 Tröpfchen sind: Hefe-Zellen			° Bll.	in 35 Tröpfchen sind: Hefe-Zellen			
		wilde	normale	Bakterien		wilde	normale	Bakterien		wilde	normale	Bakterien	
Beim Schlauchen	6,6				5,3				5,9				Am 26. Juni wurde der Kohlensäuregehalt in den drei Bieren festgestellt: I . 0,36 Proz. II . 0,33 „ III . 0,47 „
Vollsein d. Fässer am 21. April 1894	6,4				4,8				5,4				
24. April 1894	6,3				4,6				5,2				
1. Mai 1894	6,1	34	11	—	4,5	22	4	—	5,0	26	5	—	
8. Mai 1894	6,0	18	4	—	4,5	3	0	—	4,9	5	1	—	
12. Mai 1894	Spähne gestopft												
16. Mai 1894	5,8	9	20	—	4,3	6	6	—	4,7	4	11	—	Am 7. Juli wurden die seit dem 18. Juni bei 12° R. aufbewahrten Flaschenbiere untersucht:
22. Mai 1894	5,7	1	1	—	4,3	3	0	—	4,7	0	0	—	
29. Mai 1894	5,6	0	3	—	4,2	1	2	—	4,4	0	0	—	
5. Juni 1894	5,3	6	1	—	4,1	5	3	—	4,3	4	1	—	I und III: Zarte Flocken suspendiert, Bodensatz mägig. Bier fast blank.
8. Juni 1894	gespundet												
16. Juni 1894	abgezogen												
auf Transportfaß 16. Juni 1894	5,2	20	6	18	3,9	31	1	12	4,1	3	0	—	II Bier schleierig, beim Schütteln dick trübe.
auf Flaschen 7. Juli 1894	4,95	—	—	—	3,4	—	—	—	3,5	—	—	—	

Die Zahl der wilden Hefe ist in Bier I und II ziemlich gleich befunden.

Bier III zeigte die geringste Zellenzahl in den Proben. Es hatte den größten CO_2 Gehalt und war am haltbarsten.

Die normale Hefe überwog im Geläger und auf den Spähnen nach dem Abziehen des Bieres die wilde Hefe an der Zahl um das 10—20fache, an Masse vielleicht um das 30—60fache. Das Geläger war reicher an wilden Hefen als die Hefe von den Spähnen. Nach dem Spähnestopfen steigerte sich die Zahl der wilden Hefe plötzlich. Die wilde Hefe ist eben viel leichter beweglich als die normale, und das ist zu berücksichtigen, wenn die Wirkung der wilden Hefe beurteilt werden soll.

„Was lehrt uns die Vermehrungsziffer, die wir bei den Tröpfchenkulturen gefunden haben?"

35 Tröpfchen sind gleich ca. 5 cmm.

Angenommen, die 35 Tröpfchen enthalten 40 Zellen, so hat 1 ccm = 8000 Zellen. Nach ca. 5 Tagen vermehren sich die wilden Hefen ungefähr auf das 3000fache in den Tröpfchen, selbst in alten Bieren. In den 35 Tropfen entwickeln sich also 105000, im ccm 21000000 Zellen.

„Wenn also in einem ccm Bier 8000 Zellen noch so viel Nahrung vorfinden, daß 21 Millionen Zellen heranwachsen können, dann wird dadurch bewiesen, daß unter den Verhältnissen der Praxis die mögliche Endvergärung noch lange nicht erreicht war; ebenso wird daraus ersichtlich, daß 8000 Zellen im ccm noch keine Massenwirkung ausüben können, die sich in der Saccharometeranzeige bemerkbar machen würde."

„Die Befunde lieferten einen schlagenden Beweis dafür, daß bei höherer Temperatur, Gegenwart von reichlichem Sauerstoff, vermindertem Kohlensäuregehalt des Bieres, die Hefe noch große Mengen Nahrung herauszuholen vermag, die unter den Bedingungen der Praxis dem Biertrinker aufgespart bleibt."

Hoffmann (Berlin).

Galeazzi, J., Ricerche batteriologiche e chimiche sull' incerconimento del vino. (Staz. sper. agr. ital. Vol. XXVIII. pag. 181.)

Viele italienische Weine des Jahrganges 1893 zeichneten sich durch eine außerordentliche Neigung zum sog. Umschlagen aus; Verf. hatte Gelegenheit, in Ancona im Jahre 1894 eine größere Anzahl von Proben solcher Weine zu untersuchen und fand bei der bakteriologischen Prüfung in denselben immer zahlreiche Bakterienarten, von denen aber eine ganz bestimmte in sämtlichen verdorbenen Weinen sich fand. Da es sich vermutlich um einen spezifischen „Bacillus des umgeschlagenen Weines" handelte, wurden von dieser Art Reinkulturen angelegt und das Verhalten auf verschiedenen Nährböden geprüft. Der eingehenden Beschreibung, deren Einzelheiten im Original nachzusehen sind, seien nur die folgenden Hauptpunkte entnommen. Der Bacillus ist nicht pathogen, wenigstens für Hühner und Kaninchen; er verflüssigt die Gelatine nicht und

bildet keinen Farbstoff. Im Weine erscheint er in Form von mäßig langen, auf Agar von sehr kurzen Stäbchen; in Gelatine und Bouillon werden mehr oder weniger lange Fäden gebildet. Auf einer beigegebenen Tafel finden sich gut gelungene Photogramme von Präparaten aus Weinsediment wie auch aus Reinkulturen, leider ohne Angabe der angewendeten Vergrößerung.

Ueberimpfungen von Reinkulturen dieses Bacillus auf durchaus gesunden Wein sollten Auskunft über die physiologische Wirkungsweise desselben geben. Als Nährsubstrat diente teils unverdünnter, teils verdünnter Wein. Der letztere erhielt zudem einen Zusatz von Pepton und wurde zum Teil oder vollständig mittels Kaliumkarbonat neutralisiert. Das Resultat dieser Versuche war ein durchaus negatives, indem nicht nur der Wein vollständig gesund blieb, sondern 14 Tage nach erfolgter Impfung die eingetragenen Bakterien abgetötet waren. Aus diesem Verhalten zieht Verf. den Schluß, daß der Bacillus des umgeschlagenen Weines nach Uebertragung auf einen gesunden Wein abstirbt und zwar sowohl bei niedrigem wie bei hohem Alkoholgehalt desselben, bei An- und Abwesenheit von Eiweißsubstanzen, bei normalem, niedrigem oder ganz abgestumpftem Säuregehalt. (Naheliegender wäre der Schluß gewesen, daß es sich bei dem in Rede stehenden Bacillus überhaupt nicht um einen ursächlichen Erreger der erwähnten Weinkrankheit handelte, sondern um einen häufigen harmlosen Begleiter derselben. D. R.)

Burri (Zürich).

Costantin, J., Expériences sur la désinfection des carrières à Champignon. (Comptes rendus des séances de l'Académie d. sc. d. Paris. T. CXVII. p. 754—756.)

Im Anschluß an seine früheren im Laboratorium ausgeführten Desinfektionsversuche [1]) hat Verf. über die Bekämpfung der môle-Krankheit der Champignons durch Desinfektionsmittel im Großen einige Versuche angestellt. Bei dem ersten derselben wurde in einem großen zur Champignonkultur benutzten Keller eine große Menge Schwefel verbrannt, bei dem zweiten wurden die Mauern, der Boden und die Decken des Kellers mit 2,5-proz. Lysollösung bespritzt. In ersterem Falle wurde durch die Krankheit ein Verlust von $^{1}/_{188}$ der Ernte bewirkt, während dieselbe im zweiten Falle überhaupt nicht auftrat. Dahingegen vermochte die schweflige Säure auf alte Kulturerde der Champignons nur eine unvollständig desinfizierende Wirkung auszuüben, und es ist dringend anzuempfehlen, dieselbe aus den Kulturräumen zu entfernen.

Das Lysol erwies sich ferner auch als geeignet, um eine Ausbreitung der môle-Krankheit von den Infektionsherden aus zu verhindern. Die befallenen Pilze wurden zu diesem Zwecke gesammelt und in 2,5-proz. Lysollösung getaucht und der infizierte Fleck des Kulturbodens mit Lysol besprengt.

1) cf. Botan. Centralbl. 1893. Bd. LVI. p. 116.

Auch in der Praxis haben sich die Desinfektionsmethoden des Verf's. bereits gut bewährt. Zimmermann (Tübingen).

Atkinson, Geo. F., Damping off. (Bulletin 94, Cornell University Agricultural Exp. Station. 1895. p. 231—272. 6 plates.)

Die Sämlingfäulnis wird hier in mehreren Absätzen behandelt, je nach den verschiedenen Species der Pilze, welche als Erreger dieser Krankheit gefunden worden sind. Der erste Absatz erörtert die allgemeinen Symptome der Krankheit sowohl als die meteorologischen und Bodenbedingungen, welche die Krankheit begünstigen. Die Kapitel sind die folgenden:

The Potting Bed Fungus. Artotrogus Debaryanus (Hesse). (Der Name Pythium wurde zuerst von Nees ab Esenbeck im Jahre 1823 für zwei Pilze gebraucht, welche zu dem Genus Achlya gezogen worden sind. Der Verf. setzt dafür Pythium Pringsheim 1860 und braucht das zeitige Genus Artotrogus Mont.). Diesem Pilze schreibt Verf. den größeren Teil der weichen Fäulnis der Sämlinge zu und giebt eine ausführliche Beschreibung von der Entwickelung der geschlechtlichen Organe und der Befruchtung. Conidien wurden nicht beobachtet. Der Absatz wird durch eine Tafel illustriert.

Damping of Prothallia. Artotrogus intermedius (de Bary). Dieser Schmarotzer auf den Prothallien der Farnkräuter ist längst in Europa bekannt und wird nun auch aus den Vereinigten Staaten gemeldet, wo er in den Prothallien mehrerer Species (in dem Treibhause der Cornell Universität) gefunden worden ist. Der Pilz ist leicht von anderen Species des Genus dadurch zu unterscheiden, daß die Fäden vergrößert sind, wo die Conidien entstehen, beinahe wie bei Phytophthora. Verf. berichtet dann von der teilweise diplanetischen Bedingung der Zoosporen und der endlichen Verteilung derselben, welche mit der Bildung oval einzelliger Schwärmer erfolgt. Letzteres ist bisher bei keiner Species dieses Genus beobachtet worden, abgesehen von der vorläufigen Mitteilung des Verf. (Bot. Gaz. XIX. 1894. p. 375.) Die Zoosporen sind nicht nierenförmig und mit zwei seitlichen Cilien versehen, wie sie früher beschrieben wurden, sondern sind ungleichseitig spindelförmig mit zugespitzten Enden, deren jedes allmählich in ein langes Flagellum endet. Nach dem Durchbruche der protoplasmatischen Bläschen schwärmen sie in großer Geschwindigkeit mehrere Minuten lang, werden dann fast still und fangen amoebenartige Bewegung an. Diese plastischen Bewegungen dauern unregelmäßig mehrere Minuten lang fort, bald aber zeigt sich eine bestimmte Zusammenziehung des Organismus, welche ihn endlich in zwei Zoosporen theilt, deren jeder mit einer Cilie an dem kleinen Ende anhängt. Hierauf folgt noch eine andere Schwärmerperiode, und dann die Keimung der Zoosporen. Wünschenswert wäre eine ausführliche Untersuchung der übrigen Species dieses Genus.

Anmerkungen werden zu mehreren Algen (Hormiscia flaccida (Kuetz.) Lagerheim, und Species von Oscillatoria) gegeben, welche auf Prothallien in den Treibhäusern vorkamen, wo der Boden und die Luft allzu feucht sind. Während viele Prothallien durch sie getötet werden, werden andere durch sie erstickt, sodaß die Geschlechtsorgane sich nicht oder doch nur unvollkommen entwickeln.

Note on the Genus Artotrogus. Verf. zählt mehrere andere Species dieses Genus auf, welche aus Amerika noch nicht berichtet worden sind. Es sind dies folgende: A. pythioides (R. et C.) auf den Blättern von Wolffia Mitchellii; A. hydnosporus Mont., auf Kartoffeln, deren Sämlinge durch den Parasiten getötet werden; A. ferax (de Bary) in toten Insekten und toten Sämlingen im Wasser; A. megalacanthus de Bary auf toten Sämlingen und parasitisch auf Prothallien von Todea africana; A. proliferus (de Bary) saprophytisch auf toten Sämlingen und Insekten im Wasser; A. vexans (de Bary) auf toten Sämlingen und auf kranken Kartoffeln; A. anguillulae aceti (Sadebeck) parasitisch auf Anguillula aceti; A. Sadebeckianus (Wittmack), Erkrankungen von Wolfsbohnen und Erbsen erregend.

A Potting Bed Fungus new to America. Completoria complens Lohde. Verf. hat schon früher über die Gegenwart dieses Schmarotzers der Prothallien in den Vereinigten Staaten in der Bot. Gaz. Nov. 1894 berichtet. Er giebt hier nun eine Beschreibung der Entwickelung aller Grade, welche durch zwei Tafeln illustriert wird. Kranke Prothallien zeigen kleine, gelblich-braune Flecken an der Stelle, wo Schmarotzer sich befinden. Weil aber die Prothallien so klein sind, können diese Flecken mit dem bloßen Auge nicht gesehen werden, und es erscheint daher das ganze Prothallium gelblich und zerrissen durch die vielen Löcher und Ritzen an den Rändern. Der Pilz gehört zu den Entomophthoreen und besteht aus einem weintraubenartigen Klumpen von Hyphenkörpern, die dicht verzweigt sind und mit der Zeit beinahe oder ganz die Zelle der Wirtspflanzen ausfüllen. Oft wachsen einige der Hyphenkörper in die anliegenden Zellen der Wirtspflanzen hinein, während andere außerhalb des Prothalliums wachsende Conidien, wie andere Entomophthoreen, entwickeln. Dauersporen bilden sich allein aus den centralen Hyphen des Klumpen, ob infolge von Befruchtung wurde nicht festgestellt.

Auch sekundäre Conidien können gebildet werden. Bei der Keimung entsteht eine kurze Keimblase, in welche das Protoplasma einwandert. Die Keimblase bildet ein dünnes Rohr, durch welches der Schmarotzer in neue Zellen der Wirtspflanzen eindringt. Der Pilz wurde in den Prothallien von Aspidium falcatum, Pteris argyria und Pt. cretica gefunden.

A New Cutting Bed Fungus. Volutella leucotricha n. sp. Dieser Pilz erzeugt eine Fäulnis der Senker von Gartennelken (Dianthus). Mehrere der „Cuttings“ (Senker) zeigten in feuchten Gefäßen nach 48 Stunden ein üppiges Wachstum des Pilzes, welcher

viele erhöhte Stromata von weißlicher, oder von Tinten- oder Fleisch-Farbe zeigt. Farbenlose Setae, welche durch Querwände geteilt werden, umschließen die Stromata. Die Conidien messen 6—10 μ und sind fast länglich. Dieses Merkmal zeigt neben anderen, daß der Pilze von Volutella Dianthi (Hals.) abweicht.

Mit der Agar-Agar-Platten-Methode wurde eine Reinkultur des Pilzes erhalten, die auf sterilisierten Wicke- und Bohnenstengeln ebenso gut wie auf Agar-Agar wächst. Die charakteristischen Stromata entwickeln sich auf allen diesen Substraten. In den Agar-Agarplatten entwickeln die Kolonieen ein dünnes und beinahe rundliches Gewebe mit vielen zart umstrahlten Linien über der ganzen Kolonie, während sie jung ist. Wenn die Kolonie wächst, legt sich das dünne Gewebe bei der Vermehrung der Fäden in umstrahlenden Linien darüber, und auf diese Weise wird der Rand der Kolonie gekerbt. Später entwickeln sich die Stromata erst im Centrum, und nachher nach der Peripherie hin. Die in dem Mittelpunkt der Kolonie entstehenden sind größer und mehr gedrängt. Photomikrogravüren, welche alle Entwickelungsgrade des Pilzes von der Keimung der Sporen bis zu der ausgebildeten Kolonie darstellen, illustrieren dieses Kapitel.

Canker in Cucumbers. Gurkenpflanzen in den Treibhäusern, deren untere Flächen gänzlich mit Schwären besetzt sind, besonders wenn der Boden sehr feucht ist. Mehrere Meter lange Pflanzen erkranken und sterben ab. Der Sämlingspilz wird in den Schwären gefunden.

Damping off by a Sterile Fungus. Die Fruchtform dieser Pilze ist entdeckt worden. Der Verf. bemerkte den Pilz zuerst in Alabama, wo er die jungen Baumwollpflanzen angreift, und beschrieb ihn im Dezember 1892 in Bull. of the Ala. Agr. Exp. Station. Seitdem ist der Pilz auf Sämlingen und Stecklingen in den Treibhäusern der Cornell Universität gefunden worden. Kranke Sämlinge, ausgelegt in feuchte Gefäße, entwickeln ein überaus reichliches Wachstum des Mycels. Die Fäden des Mycels pflegen sich auf verschiedenen Medien (gesäuert mit einem Tropfen Milchsäure zu 10 cc) in den Kulturröhren fortzupflanzen. Verf. schildert das Wachstum des Pilzes auf sterilisierten Bohnenstengeln, Agar-Agar, Baumwollstengel, Eichenholz, Pferdemist etc. eingehend. Die Fäden des Mycels sind sehr charakteristisch, verzweigt, querwändig und verbinden sich oft zu Strängen von mehreren Hyphen. Das Mycel entwickelt auch schwarzbraune Sclerotien mit einem Durchmesser von 3—6 mm. Während Conidien oder andere Fruchtformen sich nicht finden, entwickeln dicke Hyphen an der äußern Fläche der Sclerotien 2—4-zellige Ketten kurzer Zellen mit stark zusammengezogenen Querwänden, welche unter günstigen Umständen wie Conidien keimen.

Der Pilz tritt in die Gewebe der Wirte nahe dem Boden ein und erzeugt auf größern Sämlingen mit festem Gewebe Schwären, während auf kleinen Sämlingen mit zartem Gewebe weiche Fäulnis

erregt wird, welche von der gewöhnlichen Sämlingsfäulnis nicht unterschieden werden kann, ohne Untersuchung des Pilzes.

Damping off by various Fungi. In diesem Absatze werden mehrere Pilze aufgezählt, welche Krankheiten der Sämlinge hervorbringen können, so Phytophthora cactorum, Colletotrichum Lindemuthianum, C. Gossypii, Volutella Dianthi, und Species von Gloeosporium, Phyllosticta, Septoria und Botrytis. Am Schlusse folgt ein Absatz, welcher die Behandlung der Krankheit schildert.

Geo. F. Atkinson (Ithaca).

Brizi, Ugo, Sulla Brunissure o Annerimento delle foglie della vite. (Staz. sper. agr. ital. Vol. XXVIII. p. 112.)

Verf. beschreibt eine zuerst von Viala und Sauvageau (Jour. de Bot. 1892) in Frankreich beobachtete und als Bräunung oder Schwärzung benannte krankhafte Veränderung der Rebenblätter. Die äußeren Merkmale der von der Krankheit befallenen Blätter sind folgende: Die Blattoberfläche ist von zahlreichen, anfangs hellbraunen, später dunkelbraunen bis schwarzen Flecken besetzt, welche längs der Hauptnerven zusammenfließen, auch öfters die ganze Fläche so überwuchern, daß der Blattrand leicht umgekrempelt wird und das Blatt die Form eines Löffels mit der Wölbung nach oben annimmt.

Durch Behandlung mit Javelle'scher Flüssigkeit läßt sich der Parasit, der sich namentlich im Pallissadengewebe, aber auch im Schwammparenchym aufhält, nach Lösung des normalen Zellplasmas in Form eines ungleichmäßigen Gebildes plasmatischer Natur sichtbar machen. Dasselbe, vom Verf. als Plasmodium bezeichnet, ist von netzartiger Struktur und mit Vacuolen durchsetzt. Mitunter scheint es, als ob die Plasmodien zweier benachbarter Zellen unter einander in Verbindung ständen, doch genügt ein leichtes Erwärmen, um die beidseitigen Plasmamassen von der Zellwand zurücktreten zu lassen und so die Täuschung aufzuheben. Die von dem Parasiten immer frei bleibenden Epidermiszellen sind mit braunen Körnchen gefüllt, welche bei andauernder Behandlung mit Javelle'scher Flüssigkeit verschwinden. Noch deutlicher zeigen sich die morphologischen Verhältnisse des Parasiten bei Behandlung von dünnen Blatt-Schnitten mit 20-proz. Zuckerlösung, Nachbehandlung mit verdünnter Salzsäure und geeigneten Farblösungen. Auf diese Weise lassen sich verschiedene Stadien, wie sphaeroidale, amöbenartige mit längeren und kürzeren Fortsätzen, sowie anscheinend in Zweiteilung begriffene Individuen unterscheiden. Ebenso konnte Verf. bei in angegebener Weise behandelten Präparaten Fälle konstatieren, wo zwischen Plasmodien benachbarter Zellen unzweifelhafte Kommunikation stattfand. Durch andauernde Einwirkung von Salzsäure gelang es, die Parasiten aus dem Blattparenchym zu isolieren, indem das letztere zerstört, das Plasmodium aber anscheinend kaum angegriffen wurde. Solche isolierte Gebilde zeigen eine auffallende Aehnlichkeit mit ächten Amöben.

In sämtlichen Präparaten ließ sich im Innern des Plasmodiums ein glänzender, mehr oder weniger großer Körper erkennen, der noch größere Widerstandsfähigkeit gegen chemische Agentien besitzt als die ihn umgebende Plasmamasse und der sich wie diese färbt, dagegen die üblichen Reaktionen auf Kernsubstanzen vermissen läßt.

Die Abhandlung ist von einer Tafel mit guten, etwas schematisierten Abbildungen begleitet. Burri (Zürich).

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Dieudonné, A., Eine einfache Vorrichtung zur Erzeugung von strömenden Formaldehyddämpfen für Desinfektionszwecke. (Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. XI. 1895. p. 534—543.)

Die von A. W. Hofmann gefundene Methode der Darstellung von Formaldehyd durch Einwirkung erhitzten Platins auf Methylalkohol-Dämpfe ist in letzter Zeit wiederholt praktisch verwertet worden. Auf diesem Prinzipe beruhen der Desinfektionsapparat von Cambier und Brochet und die Formaldehyd-Lampe von Tollens.

Verf. benutzte eine Lötlampe, welche mit reinem acetonfreien Methyl-Alkohol gefüllt wird, und in deren Ausströmungsrohr ein passender Einsatz aus Platin eingeschoben wird (Patent Krell). Man erhitzt das Dochtrohr der Lampe, entzündet die entweichenden Alkoholdämpfe und setzt das Erhitzen des Rohres bis zur Entwickelung einer vollen Stichflamme fort. Darauf wird das vorher glühend gemachte Platingeflecht in das Ausströmrohr gesteckt, die Flamme durch vorübergehendes Verschließen dieses Rohres zum Verlöschen gebracht und nun beginnt infolge unvollkommener Verbrennung des Methylalkohols intensive Entwickelung von Formaldehyd. Die Lampe funktioniert, wenn sie einmal ordentlich im Gange ist, vollkommen sicher bis zum völligen Verbrauche des Alkohols, so daß sie weiterer Bedienung nicht mehr bedarf.

Die Formaldehydentwickelung geht unter starkem Drucke vor sich, was bei der Lampe von Cambier und Brochet nicht der Fall ist. Ferner läßt sich die Krell'sche Lampe infolge ihrer handlichen Konstruktion jederzeit nach Belieben auf bestimmte Stellen dirigieren. Vor der Tollens'schen Lampe zeichnet sie sich durch die Regulierbarkeit der Luftzufuhr — einen für die Wirksamkeit des Verfahrens sehr wichtigen Faktor — aus [1]).

---

1) Ein neues verbessertes Modell der Lampe ist von Max Elb in Dresden zu beziehen. (Ref.)

Nachdem die vom Verf. an pathogenen Bakterien, Milzbrandsporen und Staubproben im Kleinen ausgeführten Versuche durchweg günstige Resultate ergeben hatten, wurde ein Zimmer von 28,4 cbm Rauminhalt den Wirkungen der Formaldehyddämpfe ausgesetzt. Als Prüfungsobjekte wurden wieder Milzbrandsporen, Cholera- und Typhusbakterien und Staphylococcus aureus benutzt, deren Kulturen in verschiedenen Höhen des Zimmers aufgestellt wurden. (Da das spez. Gewicht des Formaldehyds dem der Luft fast gleichkommt, findet auch in größeren Räumen gleichmäßige Verteilung der Dämpfe statt.) Die Lampe wurde in Betrieb gesetzt und das Zimmer erst nach 24 Stunden wieder geöffnet. 320 g Methylalkohol waren in Formaldehyd umgesetzt und sämtliche Bakterien und Sporen getötet worden. Die Temperatur des Zimmers betrug zur Zeit der Versuche nur 10° C.

Die Vorzüge des Verfahrens liegen einmal in der Billigkeit — gegenüber der Anwendung der Formaldehyd-Lösungen (Formalin, Formol) des Handels — andererseits in der Möglichkeit, besonders infektionsverdächtige Stellen der zu desinfizierenden Objekte längere Zeit der unmittelbaren Einwirkung strömender Formaldehyddämpfe aussetzen zu können, und schließlich in dem sicheren Funktionieren und der äußerst einfachen Handhabung des Apparates überhaupt.

Da allerlei Ungeziefer, z. B. Wanzen, durch dieses Desinfektionsmittel gründlich beseitigt wird, dürfte es sich empfehlen, auch in der Forst- und Landwirtschaft bei der Bekämpfung tierischer — vielleicht auch pflanzlicher — Schädlinge Versuche mit der Formaldehyd-Lampe anzustellen. Busse (Berlin).

Corrigendum.

In Bd. I. Abt II. p. 780. Zeile 12 von oben ist anstatt säen „sehen“ zu lesen.

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

Dr. Wilhelm Windisch.

Allgemeines über Bakterien und andere Mikroorganismen.

Eliasson, A. G., Fungi suecici. (Bot. Notis. 1895. p. 17, 57, 107.)

Ellis, J. B. and **Everhart, B. M.**, New Species of Fungi. (Bull. Torrey Bot. Club New York. 1895. p. 434.)

Fautrey, F., Nouvelles espèces sur bois de Rhus Toxicodendron. (Rev. mycol. 1895. p. 171.)

Fautrey, F. et **Lambitte**, Nouvelles espèces de la Côte-d'Or. (Rev. mycol. 1895. p. 167. c. tab.)

Frankland, P., Pasteur and his work: the debt of medicine to chemistry. (Brit. med. Journ. 1895. No. 1814. p. 825—830.)

Freudenreich, E. v., Bacteriology. Englische Uebersetzung von J. R. A. Davis. gr. 8⁰. I. London (Methuen) 1895. 2 s. 6 d.

Günther, Carl u. Thierfelder, Hans, Bakteriologische und chemische Untersuchungen über die spontane Gerinnung der Milch. (Arch. f. Hygiene. Bd. XXV. 1895. p. 164.)

Herzberg, P., Vergleichende Untersuchungen über landwirtschaftlich wichtige Flugbrandarten. (Beitr. z. Physiologie u. Morphologie niederer Organismen. Bd. V. 1895.)

Kiefsling, F., Die Bedeutung der Chemie für die Diagnose der Mikroorganismen. (Pharmazeut. Centralhalle. 1895. No. 41. p. 575—579.)

Rake, B., The Schizomycetes. (Journ. of the Trinidad Field Naturalists Club. Vol. II. 1894. p. 27.)

Renault, B., Sur quelques bactéries des temps primaires. (Bull. du Mus. d'Hist. Nat. Paris. 1895. p. 168. c. fig.)

— —, Sur quelques bactéries anciennes. (Loc. cit. p. 247. c. fig.)

Russell, H. L., Investigations on bacteria. (The Botanic. Gaz. 1895. p. 419.)

Vincent, H., Sur les microbes existant à la surface des pièces de monnaie. (Revue d'hygiène. 1895. No. 8.)

Systematik, Morphologie und Biologie der Bakterien und anderer Mikroorganismen.

Behnecke, W., Die zur Ernährung der Schimmelpilze nötigen Metalle. (Pringsheim's Jahrb. f. wissenschaftl. Botanik. Bd. XXVIII. 1895. p. 487.)

Bommer, Ch., Sur le corps radiciforme de Poronia Doumetii Pat. (Rev. mycol. 1895. p. 161. c. tab.)

Bunge, R., Ueber Sporenbildung bei Bakterien. (Fortschr. d. Med. Bd. XIII. 1895. No. 20 u. 21.)

Celli, A. e **Fiocca, R.**, Intorno alla biologia delle amebe. (Annali d. Istit. d'igiene speriment. d. R. univ. di Roma 1895. Vol. V. 1895. fasc. 2. p. 177—213.)

Diete, P., Ueber Rostpilze mit wiederholter Aecidienbildung. (Flora. Ergänzungsband. 1895. p. 394.)

Duclaux, Sur la nutrition intracellulaire, 3e mémoire. (Annal. de l'Instit. Pasteur. Année IX. 1895. No. 11. p. 811.)

Jaczewski, A. de, Forme ascosporée d'Oidium Tuckeri. (Compt. rend. des trav. présent. à la 75. sess de la soc. Helvét. des scienc. nat. à Bâle. 1894. No. 9/10. p. 109. c. fig.)

Lepierre, Ch., Recherches sur la fonction fluorescigène des microbes. (Annal. de l'Instit. Pasteur. 1895. No. 8 p. 643—663.)

Pettit, R. H., Studies in artificial cultures of Entomogenous Fungi. (Cornell Univers. agric. Exp. Stat. Bull. XCVII. 1895. July. c. 11 tab.)

Puriewitsch, K., Ueber die Stickstoffassimilation bei Schimmelpilzen. (Ber. d. deutsch. bot. Gesellsch. 1895. p. 342.)

Schostakowitsch, W., Ueber die Bedingungen der Conidienbildung bei Rußthaupilzen. (Flora. Ergänzungsband. 1895. p. 362.)

Tiberio, V., Sugli estratti di alcune muffe. (Annali d. Istit. d'igiene sperim. d. R. univ. di Roma 1895. Vol. V. fasc. 1. p. 91—103.)

Zopf, W., Zur Kenntnis des regressiven Entwickelungsganges der Beggiatoen nebst einer Kritik der Winogradski'schen Auffassung betreffs der Morphologie der roten Schwefelbakterien. (Zopf's Beitr. z. Phys. u. Morph. nied. Organismen. 1895. Heft 5. p. 37 m. Fig.)

Allgemeine Gärungsphysiologie.

Auerbach, Sigbert, Experimentelle Beiträge zur natürlichen Hefereinzucht. (Wchschr. f. Brauerei. Jahrg. XII. 1895. No. 49. p. 1177.)

Cazeneuve, P., Recherches sur la stérilisation de la lait et la fermentation lactique. (Bull. soc. chim. [3]. Bd. XIII. 1895. p. 502—509.)

Dejonghe, Gaston, Fermentation de la raffinose. Analyse de la levure pressée. (Journ. de la Distillerie française. Année XII. 1895. No. 601. p. 586.)

Fischer, Emil u. Lindner, Paul, Ueber die Enzyme einiger Hefen. (Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Jahrg. XXVIII. 1895. No. 18. p. 3034.)

Grimbert, L., Recherches sur le pneumobacille de Friedlaender. Premier mémoire. Etude des fermentations provoquées par cet organisme. (Annal. de l'Instit. Pasteur. Année IX. Tome IX. 1895. No. 11. p. 840.)

Nacken, W., Zur chemischen Charakteristik des Heidelbeersaftes und seiner Gärungsprodukte. (Forschungsber. üb. Lebensmittel, Hygiene, forensische Chemie und Pharmakognosie. Jahrg. II. 1895. p. 350.)

Brauerei

Van Laer, H., Recherches sur la composition d'une levure mixte de fermentation haute. (Bullet. de l'Association belge des chimistes. 1895. No. 7.)

Spiritusfabrikation.

Stenglein, Schudi u. **Schmidt,** Die gute alte Preßhefe. (Alkohol. Jahrg. V. 1895. No. 48. p. 758.)

Prefshefefabrikation.

Bau, Arminius, Prüfung der Preßhefe auf eine Beimengung von Unterhefe. (Zeitschr. f. Spiritus-Industrie. Jahrg. XVIII. 1895. No. 47. p. 372.)

Becker, Christian Franz, Verbesserungen beim Wiener Hefemaischverfahren. (Alkohol· Jahrg. V. 1895. No. 4. p. 773.)

Nahrungs- und Genußmittel, Konserven etc.

Glade, Beitrag zur Untersuchung der Rinder auf Finnen. (Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhygiene. 1895. Heft 11.)

Obermüller, K., Ueber Tuberkelbacillenbefunde in der Marktmilch. (Hygien. Rundschau. 1895. No. 19. p. 877—883.)

Rowland, S. D., Report of twenty five samples of milk, examined as to their bacterial flora. (Brit. med. Journ. 1895. No. 1805. p. 321—323.)

Souring of milk and other changes in milk products. (U. S. Departm. of agriculture. Farmers Bullet. 1895. No. 29.) 8°. 23 p. Washington 1895.

v. Stark, Barlow'sche Krankheit und sterilisierte Milch. (Münch. med. Wchschr. 1895. No. 42.)

Luft, Wasser, Boden.

Abba, F., Sulla presenza del bacillus coli nelle acque potabili e sopra un metodo per-metterlo in evidenza. (Riforma med. 1895. No. 176. p. 302—304.)

Arens, C., Ueber das Verhalten der Choleraspirillen im Wasser bei Anwesenheit fäulnisfähiger Stoffe und höherer Temperatur. (Münch. med. Wchschr. 1895. No. 44.)

Arnould, Les nouveaux bacilles courbes de l'eau. (Revue d'hygiène. Vol. XVI. 1895. No. 3.)

Cappelletti, E. e **Vivaldi, M.,** Ricerche chimico-batterioscopiche sul Bacchiglione in rapporto con Padova. Contributo allo studio dell' inquinamento e dell' autodepurazione dei fiumi. (Annali d. Istit. d'igiene speriment. d. R. univ. di Roma 1895. Vol. V. 1895. fasc. 2. p. 137—175.)

Coreil, F., L'eau potable. 18⁰. Av. 136 fig. Paris (Baillière & fils) 1895. 5 fr.

Czaplewski, Versuche mit einem neuen Apparat zur Darstellung künstlicher Mineralwässer. Aus dem chemischen Laboratorium für hygienisch-bakteriologische und chemisch-technische Untersuchungen in Königsberg i. Pr. (Hygien. Rundschau. 1895. No. 18 u. 19.)

Freudenreich, E. de, De la recherche du bacille coli dans l'eau. (Annal. de microgr. 1895. No. 7/8. p. 326—329.)

Pfuhl, E., Untersuchungen über die Verunreinigung der Grundwasserbrunnen von unten her. (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XXI. 1895. p. 1.)

Schbankow, K., Qualitative Bestimmung des Bakteriengehaltes des Angaraflußwassers (Irkutsk). (Wratsch. 1895. No. 18.) [Russisch.]

Smith, Th., Notes on bacillus coli communis and related forms, together with some suggestions concerning the bacteriological examination of drinking water. (Amer. Journ. of med. science. Vol. II. 1895. No. 3. p. 283—302.)

Tiemann u. Gärtner's Handbuch der Untersuchung und Beurteilung der Wasser. Bearbeitet von G. Walter und A. Gärtner. 4 Aufl. gr. 8⁰. XXXVI, 841 p. m. 40 Holzst. u. 10 farb. Taf. Braunschweig (Friedrich Vieweg & Sohn) 1895. 24 M.

Vaillant, De la potabilisation des eaux fluviales. (Revue d'hygiène. 1895. p. 178.)

Durch Parasiten verursachte Krankheiten der Pflanzen.

A Leaf-Blight of Oats. (15. Ann. Reports of the New Jersey Agric. Exp. Stat. f. the year 1894. Trenton 1895. p. 319.)

Atkinson, G. F., Some observations on the development of Colletotrichum in artificial cultures. (Bot. Gaz. Bd. XX. 1895. No. 7. p. 305—311. With 1 pl.)

— —, Damping off. (New York Cornell Sta. Bul. 1894. p. 233—272. With 6 pl., 1 fig.)

Baccarini, P., Intorno ad una malattia della palma da datteri. (Bull. della Soc. Bot. Ital. 1895. p. 196.)

Bairstow, S. D., The griven washed carrot and turnip moth (Plusia aurifera). (Agl. Jour. Cape Colory. Bd. VIII. 1895. No. 14. p. 357. With 3 figs.)

Beckwith, M. H., San José scale in Delaware. (Delaware Sta. Bul. 1895. No. 25. p. 8. With 4 figs.)

Blasdale, W. C., Observations on Puccinia mirabilissima. (Erythea III. 1895. p. 131. c. tab.)

Britton, W. E., Notes on some leaf miners. (Connecticut State Sta. Rpt. 1894. p. 143—146. With 3 pl.)

Doering, Einiges über Phoma betae. (Der Landwirt. Jahrg. XXXI. 1895. No. 98. p. 583.)

Fischer, E., Nouvelles recherches sur les Urédinées. (Compt. rend. des travaux présent. à la 75. sess. d. l. Soc. Helvét. des sc. nat. à Bâle. 1894. No. 9/10. p. 101.)

Forbes, S. A., Experiments with the muscardine disease of chinch bugs and with the trap and barrier methods for the destruction of that insect. (Illinois Sta. Bul. 38. 1895. p. 25—86. With 8 pl.)

Godfrin, Sur une anomalie hyméniale de l'Hydnum repandum. (Rev. mycol. 1895. p. 182.)

Herzberg, P., Vergleichende Untersuchungen über landwirtschaftlich wichtige Flugbrandarten. (Beitr. z. Phys. u. Morphologie niederer Organismen. Bd. V. 1895. p. 1.)

Hickman, J. Fr., Oats. (Ohio Agric. Exp. Stat. Bullet. 1895. No. 57.)

Insect enemies of the vine. (Abs. in Rev. Scient. ser. 4. Bd. IV. 1895. No. 1. p. 25.)

Kiehl, A. F., Noch einiges über Phoma betae. (Der Landwirt. Jahrg. XXXI. 1895. No. 100. p. 595.)

Lagerheim, G. v., Uredineae Herbarii Eliae Fries. (Tromsoe Museums Aarshefter XVII. 1894. Tromsoe 1895. p. 25.)

Lounsbury, C. P., A new greenhouse pest. (Massachusetts Agl. College. Rpt. 1894. p. 111—132. With 4 pl.)

— —, M. C. C. Fungus on flies and plant lice. (The Gard. Chron. 3. ser. Vol. XVIII. 1895. p. 266.)

Magnus, O., Ueber das Mycel und den Parasitismus einer neuen Sclerospora-Art. (Biol. Centralbl. Bd. LXIV. 1895. p. 111.)

Massee, G, A disease of tomatoes. (Gard. Chron. ser. 3. Bd. XVII. 1895. No. 441. p. 707—708. With 3 figs.)

Niel, E., Quelques remarques sur l'Aecèdium elatinum Alb. et Schw. (Bull. Soc. Amis. Scienc. Nat. de Rouew. 3. ser. T. XXX. 1894. sem. I. p. 46.)

Norton, J. B. S., Ustilago Reiliana on corn. (The Botanic. Gaz. 1895. p. 463.)

Prillieux, E., Maladies des Plantes Agricoles et des arbres fruitiers causées par des parasites végétaux. Tome I. (Paris. Libr. de Firmin-Didot et Co. 56. Rue Jacob. 437 p. c. 190 fig.)

Sim, T. R., On certain diseases of forest trees. (Agl. Jour. Cape Colonal. Bd. VIII. 1895. No. 13. p. 331—333. with 3 figs.)

— —, Blue gum lice. (Agl. Journ. Cape Calony. Bd. VIII. 1895. No. 13. p. 336 —338.)

Slingerland, M. V., The cigar-case beares in western New York. (New York Cornell Sta. Bul. 93. p. 215—230 With 11 figs.)

Some of the more injourious fungi to fruits in 1894. (15. Ann. Rep. of the New Jersey Agr. Exp. Stat. f. the year 1894. Trenton 1895. p. 230. c. fig.)

Some of the more injourious Fungi upon market-garden crops. (Loc. cit. p. 335.) c. fig.

Some of the fungous diseases of ornamental plants. (Loc. cit. p. 362.) c. fig.

Stewart, F. C., Witches brooms on cherry trees. (Garden and Forest. Bd. VIII. 1895. No. 384. p. 269.)

Sturgis, W. C., Fungus diseases and their treatment. (Connecticut State Sta. Rpt. 1894. p. 113—139. With 1 figs.)

— —, Some injurious insects. (Connecticut State Sta. Rpt. 1894. p. 139—142. With 1 pl.)

Sugar cane disease in Barbados. (Kew. Misc. 1895. No. 100 und 101. p. 81—88.)

The sugar-cane disease and soil exhaustion. (Bul. Bot. Dept. Jamaica. Jahrg. II. 1895. No. 6. p. 115—117.)

Vines, H. C. A., Predaceous and parasitic enemies of aphides. (Internat. Journ. Micr. and Nat. Sc. Bd. V. 1895. No. 27. p. 254—268. With 2 pls.)

W. K. Rust in Begonias. (The Gard. Chron. 3. ser. Vol. XVIII. 1895. p. 304.)

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Dippel, Leop., Das Mikroskop und seine Anwendung. II. T.: Anwendung des Mikroskops auf die Histologie der Gewächse. 1. Lfg. (Friedr. Vieweg & Sohn, Braunschweig. 24 M.)

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien.

Bordas et **Hirard**, Epuration chimique des eaux par le permanganate de chaux. (Comptes Rendus de l'academie des sciences de Paris. 1895.)

Calmette, A., L'antisepsie et la desinfection en brasserie. (Conference faite le 20 novbr. à l'assemblée générale annuelle du Syndicat des brasseurs du Nord de la France. La Bière. Année III. 1895. No. 12. p. 139.)

Christen, Theodor, Untersuchungen über die Dauer des Sterilisationsprozesses im gespannten Dampf bei gegebenen fixen Temperaturen. (Mitteil. aus Kliniken und mediz. Instituten der Schweiz. III. Reihe. 2. Heft. 1895.)

Fedorolf, A. K., Der Einfluß des Chlorlithiums auf Bakterien. [Russisch.] (Wratsch, Bd. XVI. 1995. p. 1084.)

Geuther, Th., Einwirkung von Formaldehydlösung auf Getreidebrand. (Ber. d. pharmazeutischen Gesellsch. Bd. V. 1895. p. 325.)

de Grazia, Sui disinfettanti dal punto di viste microbiochimico. (Riforma med. 1895. No. 219. p. 817—819.)

Jean, F., Destruction of microorganisms by formol. (Ind. Lait. Bd. XX. 1895, No. 27. p. 209—210.)

Lamson, H. H., Spraying experiments in 1894. (New Hampshire Sta. Bul. Jhg. XXVII. 1895. p. 16.)

Likudi, G. G., Ueber einige Angaben zur Charakteristik der Uransalze und über die desinfizierenden Eigenschaften derselben. [Russisch]. (Wratsch. Bd. XVI. 1895. p. 1055.)

Panfili, G., Dell' aumento del potere battericida delle toluzioni di sublimato corrosivo per l'aggiunta di acidi e di cloruro di sodio. (Istituto d'Igiene di Napoli-Annali dell'Istituto d'Igiene Sperimentall di Roma. Vol. III. [Nuova Serie]. Fasc. IV. p. 529.)

Taft, L. R., When and what to spray. (Michigan Sta. Special Bul. Mar. 1895. p. 9.)

Ullmann, Ist, um Nematodenschaden zu verhindern oder zu vermindern, eine Düngung mit Phosphorsäure ratsam. (Der Landbote. Jahrg. XVI. 1895. No. 100. p. 877.)

Weed, H. E., A new Kerosene attachment for Knapsack sprayers. (Mississippi Sta. Bul. 32. p. 56—58. With 1 fig.)

Inhalt.

Originalmitteilungen.

Referate.

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie und Parasitenkunde.

Zweite Abteilung:

Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie und Pflanzenpathologie.

In Verbindung mit

Prof. Dr. **Adametz** in Krakau, Dr. W. M. **Beyerinck** in Delft, Prof. Dr. **A. B. Frank** in Berlin, Dr. **v. Freudenreich** in Bern, Prof. Dr. **Emil Chr. Hansen** in Kopenhagen, Dr. **Lindner** in Berlin, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Dr. **Erwin F. Smith** in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. **Stutzer** in Bonn, Privatdocent Dr. **Wehmer** in Hannover, Dr. **Weigmann** in Kiel, Dr. **Wilfarth** in Bernburg und Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg.

herausgegeben von

Dr. O. Uhlworm in Cassel.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

I. Band. Jena, den 31. Dezember 1895. **No. 26.**

Preis für den Band (26 Nummern) 16 Mark.

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde“ richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige ***Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.***

Systematisches Inhaltsverzeichnis.

I. Originalmitteilungen.

II. Zusammenfassende Uebersichten.

III. Original-Referate aus bakteriologischen Instituten etc.

IV. Referate.

V. Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

VI. Schutzimpfung, künstliche Infektionskrankheiten, Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien.

VII. Neue Litteratur.

VIII. Autorenverzeichnis.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.